

Tesis Doctoral

Universidad de Málaga
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina y Dermatología
Laura Nieves Martín



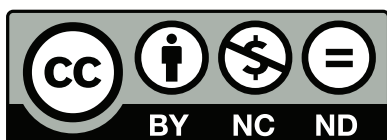
ESTUDIO MULTICÉNTRICO LONGITUDINAL DE DEPLECIÓN DE LINFOCITOS B EN LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO REFRACTARIO: ESTUDIO LESIMAB

Tesis doctoral presentada por Laura Nieves Martín, Licenciada en Medicina y Cirugía, por la que opta al grado de Doctor en Medicina

Director de la Tesis Doctoral:
Profesor Antonio Fernández Nebro

AUTOR: Laura Nieves Martín

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons:

Reconocimiento - No comercial - SinObraDerivada (cc-by-nc-nd):

[Http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es)

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización
pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer
obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de
Málaga (RIUMA): riuma.uma.es

TÍTULO

ESTUDIO MULTICÉNTRICO LONGITUDINAL DE DEPLECIÓN DE
LINFOCITOS B EN LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO REFRACTARIO:
ESTUDIO LESIMAB

AUTORA

Laura Nieves-Martín

Reumatóloga

Hospital Regional Universitario Carlos Haya

PROFESOR:

Antonio Fernández Nebro

Profesor Titular de Medicina

Departamento de Medicina y Dermatología

Facultad de Medicina de Málaga

Málaga, a 30 de mayo de 2014



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y DERMATOLOGÍA

Don Antonio Fernández Nebro, Doctor en Medicina y Cirugía,

CERTIFICA que D^a **Laura Nieves Martín**, ha obtenido y estudiado bajo mi dirección el material necesario para la realización de su tesis doctoral titulada:
“Estudio multicéntrico longitudinal de depleción de linfocitos B en lupus eritematoso sistémico refractario: estudio LESIMAB”.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes expide el presente en Málaga, a 30 de mayo de 2014.

Fdo: Prof. Antonio Fernández Nebro

Este trabajo de investigación ha sido parcialmente subvencionado por el Programa RETICS, RD08/0075 (RIER) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), con el VI PN de I + D + I 2008-2011, (FEDER).

Esta tesis ha sido publicada en las revistas (artículos completos en anexos):

Reumatología clínica, 2010, 6(S2): 28-33

Lupus, Septiembre 2012, volumen 21, capítulo 10, páginas 1063-76

Ann Rheum Dis, 2012; 71 (Suppl3): 674

Lupus, 2014 May 15. pii: 0961203314534909. [Epub ahead of print]

Dedicado a mi familia

ÍNDICE

I. RESUMEN	23
II. INTRODUCCIÓN	27
1. DEFINICIÓN	27
2. EPIDEMIOLOGÍA	27
3. CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN	29
4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD Y DEL DAÑO ESTRUCTURAL	32
5. PATOGENIA Y PAPEL DE LAS CÉLULAS B	35
5.1. Factores genéticos	38
5.2. Factores ambientales	39
5.3. Ambiente hormonal	40
5.4. Inmunopatogénesis	41
5.4.1. Alteración de la respuesta inmune innata	41
5.4.2. Alteración de la respuesta inmune adaptativa	41
5.4.3. Papel de la célula B	42
5.4.4. Mecanismos de daño tisular	44
6. TRATAMIENTO	46
6.1. Glucocorticoides	48
6.1.1. Efectos adversos sobre el aparato locomotor	50
6.1.2. Efectos adversos gastrointestinales	51
6.1.3. Efectos adversos inmunológicos	52
6.1.4. Efectos adversos cardiovasculares	52
6.1.5. Efectos adversos oculares	52
6.1.6. Efectos adversos dermatológicos	52
6.1.7. Efectos adversos endocrinos	53
6.1.8. Efectos adversos conductuales	53
6.2. FAME	54
6.3. Inmunosupresores	55

6.3.1. Azatioprina	55
6.3.2. Micofenolato mofetilo	56
6.3.3. Ciclofosfamida	57
6.3.4. Calcineurínicos	58
6.4. Terapia biológica	58
6.4.1. Terapias biológicas dirigidas contra las células B	59
6.4.2. Terapias biológicas con indicación aprobada en LES: Belimumab	60
6.4.3. Terapias biológicas usadas fuera de ficha técnica	62
6.4.3.1. <i>Antagonistas del TNFα</i>	62
6.4.3.2. <i>Abatacept</i>	63
6.4.3.3. <i>Tocilizumab</i>	63
6.4.3.4. <i>Rituximab</i>	64
6.4.4. Terapias biológicas en investigación	74
6.4.4.1. <i>Epratuzumab</i>	74
6.4.4.2. <i>Atacicept</i>	75
6.4.4.3. <i>Ocrelizumab</i>	76
6.4.4.4. <i>Ofatumumab (HuMax CD20)</i>	77
6.4.4.5. <i>Rontalizumab y Sifalimumab</i>	77
6.4.4.6. <i>Eculizumab</i>	77
6.4.4.7. <i>Tratamientos anti-citokina</i>	78
6.4.4.8. <i>Terapias dirigidas contra señales reguladoras</i>	78
7. CONCEPTO DE GRAVEDAD Y REFRACTARIEDAD	78
8. MORTALIDAD Y PRONÓSTICO	80
9. RIESGO CARDIOVASCULAR	81
9.1. ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA	82
9.2. FISIOPATOLOGÍA	83
9.2.1. Factores de riesgo cardiovascular	83

clásicos	
9.2.2. Factores ligados a la inflamación	83
9.2.3. Factores relacionados con las terapias	85
9.2.3.1. <i>Terapia esteroidea</i>	85
9.2.3.2. <i>AINE</i>	89
9.2.3.3. <i>COXIBS</i>	89
9.2.3.4. <i>AINE no selectivos</i>	91
9.2.3.5. <i>Antipalúdicos</i>	91
9.2.3.6. <i>Inmunosupresores</i>	92
9.2.3.7. <i>Terapias biológicas</i>	92
9.2.3.8. <i>Hipolipemiantes</i>	98
III. JUSTIFICACIÓN	103
IV. HIPÓTESIS	107
V. OBJETIVOS	111
1. OBJETIVO GENERAL	111
2. OBJETIVOS OPERATIVOS	111
VI. PACIENTES Y MÉTODOS	115
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	115
2. PACIENTES	115
2.1. Población diana	115
2.2. Criterios de estudio	115
2.3. Muestra de estudio	115
2.4. Criterios de inclusión	115
2.4.1. Criterios de inclusión de la muestra general	115
2.4.2. Criterios de inclusión de la submuestra lipídica	116
2.5. Criterios de exclusión	116
3. PROTOCOLO DEL ESTUDIO	116
4. VARIABLES DEL ESTUDIO Y DEFINICIONES OPERATIVAS	118

4.1. Variables de desenlace de la muestra general	118
4.1.1. Variable de desenlace principal en el análisis de efectividad	118
4.1.2. Variables de desenlace secundarias	118
4.2. Variables de desenlace de la submuestra lipídica	118
4.3. Listado de variables y definiciones operativas	119
4.3.1. Variables en relación con las características basales de la muestra	119
4.3.2. Variables en relación con el esquema de administración de rituximab	123
4.3.3. Variables clínicas en relación con la respuesta al tratamiento	125
4.3.4. Variables de laboratorio en relación con respuesta al tratamiento	128
4.3.5. Variables en relación con el perfil de seguridad	130
4.3.6. Variables en relación con el perfil cardiovascular	132
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	134
5.1. Muestra por protocolo	134
5.2. Muestra por intención de tratar	135
6. ASPECTOS ÉTICOS Y DE CONFIDENCIALIDAD	136
7. CONSISTENCIA INTERNA	136
8. CONSISTENCIA EXTERNA	137
VII. RESULTADOS	141
1. RESULTADOS DE LA MUESTRA INICIAL DE LESIMAB	141
1.1. Características basales de los pacientes seleccionados	141
1.2. Actividad basal de la enfermedad	143

1.3. Régimen de administración de rituximab y tratamiento concomitante	144
1.4. Indicaciones de rituximab	146
1.5. Respuesta clínica después del primer curso de rituximab	146
1.6. Efectividad del rituximab durante el seguimiento	150
1.7. Recidivas	156
1.8. Factores relacionados con la efectividad	156
1.8.1. Tratamiento concomitante con ciclofosfamida	157
1.8.2. Tratamiento concomitante con hidroxicloroquina	158
1.8.3. Análisis de otras variables en relación con la efectividad	158
1.9. Perfil de seguridad del rituximab a lo largo del seguimiento	160
1.10. Factores relacionados con los eventos adversos	163
1.10.1. Seguridad en relación con la pauta de administración del rituximab	163
1.10.2. Seguridad en relación con las características basales de la muestra	165
2. RESULTADOS DE LA SUBMUESTRA LIPÍDICA	167
2.1. Características basales	167
2.2. Actividad basal e indicaciones del tratamiento	170
2.3. Efectividad a las 24 semanas y al final del seguimiento	171
2.4. Parámetros lipídicos basales	173
2.5. Variaciones lipídicas tras el tratamiento con rituximab	173

2.6. Factores relacionados con los cambios lipídicos	174
VIII. DISCUSIÓN	181
1. ESTUDIO DE LA MUESTRA GENERAL	181
1.1. Tamaño muestral y características de la muestra	181
1.2. Respuesta al tratamiento	182
1.3. Pauta de administración y tratamiento concomitante	183
1.4. Recidivas y retratamiento	185
1.5. Seguridad del rituximab	186
1.6. Dificultades y limitaciones del estudio general	188
2. SUBESTUDIO LIPÍDICO	189
2.1. Características de la muestra y perfil cardiovascular	189
2.2. Cambios lipídicos tras el tratamiento y factores relacionados	192
2.3. Dificultades y limitaciones del subestudio lipídico	194
IX. CONCLUSIONES	199
X. ABREVIATURAS	203
XI. AGRADECIMIENTOS	211
XII. BIBLIOGRAFÍA	215
XIII. ANEXOS	249

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación ACR revisada dell 1997 del Lupus Eritematoso Sistémico	31
Tabla 2. Indicaciones por órganos y sistemas de las terapias inmunosupresoras en el LES	47
Tabla 3. Terminología de dosis de glucocorticoides en reumatología	48
Tabla 4. Resumen de los efectos adversos más frecuentes del uso de glucocorticoides	50
Tabla 5. Recomendaciones de las terapias inmunosupresoras en LES	55
Tabla 6. Principales características de las terapias deplectoras de células B	60
Tabla 7. Evidencia sobre el uso de rituximab en el LES	67
Tabla 8. Tasas de incidencia de IAM entre 1980-93	82
Tabla 9. Factores de riesgo cardiovascular en las IMID	84
Tabla 10. Características basales de la muestra por protocolo	142
Tabla 11. Tratamientos previamente recibidos contra la enfermedad de la muestra por protocolo	143
Tabla 12. Actividad de la enfermedad a nivel basal de la muestra por protocolo	144
Tabla 13. Régimen de administración de rituximab y tratamientos concomitantes de la muestra por protocolo	145
Tabla 14. Efectividad de rituximab tras 6 ± 3 meses del primer curso	148
Tabla 15. Evolución de los signos SFI (leve-moderados y graves) tras 6 ± 3 meses del primer curso	149
Tabla 16. Evolución de los parámetros de laboratorio tras 6 ± 3 meses del	150

primer curso

Tabla 17. Efectividad del rituximab a lo largo del seguimiento	153
Tabla 18. Evolución de los signos SFI (leve-moderados y graves) durante el seguimiento	154
Tabla 19. Evolución de los parámetros de laboratorio durante el seguimiento	155
Tabla 20. Diferencias basales entre los pacientes con lupus tratados con y sin ciclofosfamida concomitante	157
Tabla 21. Diferencias basales entre los pacientes con lupus tratados con y sin hidroxicloroquina concomitante	158
Tabla 22. Análisis de regresión logística uni- y multivariante tras 6 ± 3 meses del primer curso	159
Tabla 23. Eventos adversos observados durante el tratamiento con rituximab	161
Tabla 24. Eventos adversos (distintos de las infecciones y las reacciones infusionales) observados durante el tratamiento con rituximab	162
Tabla 25. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab	165
Tabla 26. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab	166
Tabla 27. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab	167
Tabla 28. Comparación entre las características basales de los pacientes excluidos y los incluidos para la submuestra lipídica	168
Tabla 29. Comparación entre las características lipídicas basales de los	169

pacientes excluidos y los incluidos para la submuestra lipídica	
Tabla 30. Características basales de la submuestra lipídica	170
Tabla 31. Perfil cardiovascular clásico basal de la submuestra lipídica	170
Tabla 32. Evolución de las variables clínicas y del tratamiento concomitante durante el seguimiento de la submuestra lipídica	172
Tabla 33. Parámetros lipídicos basales de la submuestra	173
Tabla 34. Evolución de las variables lipídicas durante el seguimiento de la submuestra	174
Tabla 35. Análisis lineal de correlaciones bivariantes entre las variables relacionadas con la actividad del lupus y las variables lipídicas a la semana 24 del primer curso	175
Tabla 36. Análisis lineal de correlaciones bivariantes entre las variables relacionadas con la actividad del lupus y las variables lipídicas al final del seguimiento	175
Tabla 37. Modelos de análisis de regresión lineal múltiple a las 24 semanas del primer curso de rituximab	177
Tabla 38. Modelos de análisis de regresión lineal múltiple al final del seguimiento	178

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Predominio femenino en edad fértil	29
Figura 2. Clasificación de Mc. Gonagle de las IMID	35
Figura 3. Modelo estocástico de la patogénesis del LES	37
Figuro 4. Modelo de umbral de desventaja en la patogénesis del LES	37
Figura 5. Mecanismos de daño tisular en el LES	46
Figura 6. Patrón bimodal de mortalidad en el LES	81
Figura 7. Diagrama de sectores que muestra las indicaciones primarias de rituximab	146
Figura 8. Flujo de pacientes para el análisis de efectividad tras el primer curso de rituximab	147
Figura 9. Flujo de pacientes para el análisis de efectividad al final del seguimiento	151
Figura 10. Tiempo transcurrido hasta alcanzar la mejor respuesta durante el seguimiento (tras la administración del primer curso de rituximab)	152
Figura 11. Tiempo transcurrido hasta la recidiva durante el seguimiento (tras la administración del primer curso de rituximab)	156
Figura 12. Tiempo transcurrido desde la infusión de rituximab hasta presentar una infección grave	163
Figura 13. Incidencia de eventos adversos totales, infecciones totales, infecciones severas y sepsis en relación con la pauta de administración de rituximab	164

RESUMEN

I. RESUMEN

OBJETIVO:

El objetivo principal de esta tesis fue estudiar la efectividad y la seguridad de uno o varios cursos de rituximab en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) refractario. Así mismo, quisimos explorar si rituximab tiene algún efecto sobre los niveles lipídicos.

MÉTODOS:

Cohorte retrospectiva, multicéntrica, nacional de pacientes con LES refractario a terapia inmunosupresora estándar, que fueron tratados con rituximab. Como desenlace de efectividad se analizó la tasa de respuesta a los 6 meses y al final del seguimiento. La respuesta completa se definió como un SELENA-SLEDAI ≤ 2 y un SFI de 0. La respuesta parcial fue definida como una reducción de ≥ 4 puntos en el SELENA-SLEDAI sin empeoramiento ni aparición de nuevos síntomas. La seguridad fue estudiada mediante la recogida de eventos adversos. El perfil lipídico se estudió en el subgrupo de pacientes que tenían todos los datos completos al inicio y durante su seguimiento.

RESULTADOS:

De 116 pacientes (población por protocolo), 73 (62,9%) alcanzaron una respuesta a los 6 meses (respuesta completa en 22 pacientes y parcial en 51). De 128 pacientes, 97 (77,6%) alcanzaron una respuesta final tras un seguimiento medio de $20,0 \pm 15,2$ meses (completa en 50 pacientes y parcial en 47). El grado de actividad inflamatoria de la enfermedad (SELENA-SLEDAI), el tratamiento previo con dosis elevadas de prednisona y la ausencia de antecedentes hematológicos graves, se asociaron con mayor probabilidad de respuesta tras el primer curso de rituximab. El tiempo medio en alcanzar una respuesta fue de 6,5 meses (IC 95%, 5,0-8,0). Entre los respondedores, 37 pacientes (38,1%) recidivaron tras el primer curso de rituximab. El brote fue severo en 7 casos y leve-moderado en 29 casos. La tasa de infecciones graves fue de 12,6/100 pacientes/año. La pauta de administración de 4 dosis semanales se asoció con mayor riesgo de infección grave. Se produjeron 6 fallecimientos: 2 por infecciones y 4 por

complicaciones de la enfermedad. De los 79 pacientes elegidos para el subanálisis lipídico, el 69% mostró alguna anomalía lipídica basal, principalmente LDL>100 mg/dl (34%) y HDL<50 mg/dl (27%). Los niveles basales de colesterol total (CT) y colesterol ligado a lipoproteínas de bajadensidad (LDL) se correlacionaron positivamente con la proteinuria, mientras que los triglicéridos(TG) con SELENA-SLEDAI. Tras el tratamiento disminuyeron los niveles de TG tanto a corto como a largo plazo.El análisis de regresión lineal múltiple identificó la reducción de la actividad inflamatoria del LES y en particular la proteinuria como la única variable independiente relacionada con la disminución de los niveles de TG a las 24 semanas ($p=0,001$) y CT ($p=0,005$) y TG ($p<0,001$) al final del seguimiento.

CONCLUSIONES:

Rituximab puede ser una opción efectiva para el tratamiento de pacientes con LES grave refractario a terapia convencional, con un perfil de seguridad aceptable. Así mismo, rituximab mejora el perfil lipídico a corto y largo plazo de los pacientes con LES refractario a través de la mejoría de la actividad y particularmente de la nefritis lúpica.

INTRODUCCIÓN

II. INTRODUCCIÓN

1. DEFINICIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad inflamatoria crónica, autoinmune, de etiología desconocida, caracterizada por una amplia variedad de manifestaciones clínicas asociadas a la presencia de auto-anticuerpos. Es considerada el prototipo de enfermedad autoinmune ya que se caracteriza por la producción de auto-anticuerpos dirigidos contra componentes nucleares celulares, que se asocian a las distintas manifestaciones clínicas y que pueden afectar a la mayoría de órganos y sistemas. El LES es por tanto una enfermedad compleja, con una gran heterogeneidad clínica y con un curso caracterizado por períodos de brote y remisión que suponen, en la mayoría de los casos, un reto terapéutico.

2. EPIDEMIOLOGÍA

Dentro del grupo de las enfermedades inflamatorias inmunomediadas (IMID, “*Immune-mediated Inflammatory Disease*”), el LES es una enfermedad poco frecuente, aunque no tanto como para considerarla rara. Su frecuencia es 10 veces menor que la de la artritis reumatoide (AR) a pesar de que en los últimos 40 años se ha triplicado su incidencia (1). Este aumento de la frecuencia del lupus puede explicarse principalmente por una mejora en los procedimientos diagnósticos que han permitido reconocer las formas más leves y/o precoces de la enfermedad.

La prevalencia de la enfermedad es muy heterogénea en todo el mundo y varía entre las distintas series reportadas, debido en parte a las diferencias geográficas y raciales del área observada y también influenciada por la metodología empleada en los estudios (sobre todo a la hora de definir los criterios de caso de lupus). La prevalencia reportada oscila por tanto entre 7,4 y 159,4 casos por 100.000 habitantes. Existen numerosos estudios epidemiológicos acerca de esta influencia geográfica y racial, destacándose en todos ellos que la frecuencia de la enfermedad es más alta en las poblaciones de raza no blanca (2). Los afro-americanos y los hispanos son los que se afectan más y de forma más grave. De hecho varios estudios han puesto de manifiesto que la prevalencia del LES es 6-7 veces mayor en los afroamericanos y afro-caribeños que emigran a Europa que en los descendientes directos de europeos.

Algún estudio muestra una tendencia hacia una mayor incidencia y prevalencia de la enfermedad en Europa y en Australia respecto a Estados Unidos (2).

Los datos de incidencia nacionales son difíciles de obtener debido a que es complicado concretar con exactitud cuándo comienza la enfermedad (signos y síntomas no específicos que explicarían los infra- y sobre-diagnósticos) y debido también en parte a que algunos estudios han sido realizados en áreas territoriales pequeñas. Las cifras estimadas rondan entre 1,8 – 7,6 casos por 100.000 personas-año en regiones de Estados Unidos. Por otro lado, como mencionábamos anteriormente, debido a las mejoras diagnósticas los datos de incidencia del LES se han triplicado en los últimas décadas (1).

Concretamente en España, existen varios estudios en los que se ha evaluado en profundidad la prevalencia del LES en la población general. Uno de ellos es el estudio EPISER (3), llevado a cabo por la Sociedad Española de Reumatología. En este estudio se estimó que la prevalencia de la enfermedad en la población española adulta era de 91 por 100.000 habitantes (IC 95%: 30-330). A pesar de que no se trata de una estimación muy precisa, los datos se encuentran dentro de los límites hallados en otras series poblacionales. En otro estudio, publicado por López et al (4), se estimó sin embargo una prevalencia mucho más baja que en el estudio EPISER (34 por 100.000 habitantes) y una tasa de incidencia anual de 3,64 (IC 95%: 2,93-4,35) por cada 100.000 habitantes en el caso de mujeres y de 0,54 (IC 95%: 0,26-0,82) por cada 100.000 habitantes en el de los hombres. Esta prevalencia e incidencia son similares a la de Inglaterra, Norte Irlanda y Dinamarca, pero más baja que la encontrada en Suiza e Islandia. Por último, en el estudio de Alonso et al (5) en el que se estudió la población del noroeste español, se encontró una tasa de incidencia anual de 3,6 por 100.000 habitantes-año, a partir de los 15 años de edad (IC 95%: 3,0-4,2), siendo mayor en mujeres [5,9 por 100.000 habitantes-año (IC 95%: 4,9-7,0)] que en varones [1,1 por 100.000 habitantes-año (IC 95%: 0,7-1,7)].

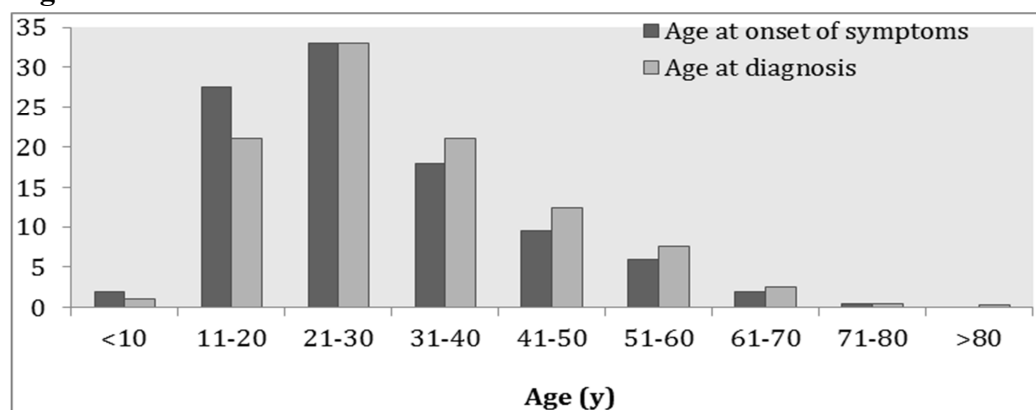
Además de las características raciales y geográficas, también existen diferencias importantes en cuanto al sexo y la edad. Las mujeres padecen esta enfermedad con mucha más frecuencia que el hombre, con una proporción aproximada de 9:1. Esta

marcada predisposición femenina disminuye fuera de la edad fértil, lo que sugiere un papel de las hormonas sexuales en la patogenia de la enfermedad. Los hombres con LES suelen diagnosticarse en edades más avanzadas y tienen una mayor mortalidad al año del diagnóstico. Por otro lado, se ha observado en los varones una menor frecuencia de fotosensibilidad pero más casos de serositis.

En cuanto a su debut, el LES puede presentarse a cualquier edad aunque un 65% de los pacientes se diagnostican entre los 16 y los 55 años, especialmente entre los 21 y los 30 años, coincidiendo más o menos con la edad reproductiva de la mujer (figura 1). Su aparición antes de la pubertad o tras la menopausia no es común. Menos del 15% de los casos se inician antes de los 15 años o después de los 50 años (6). Sin embargo, algunos estudios están encontrando una tendencia al retraso en la edad de comienzo del LES hasta después de los 40 años (7).

La enfermedad tiende a ser más moderada en los pacientes con más edad, con una menor incidencia de manifestaciones cutáneas, renales y neurológicas pero con una mayor prevalencia de serositis, afectación pulmonar, síndrome seco y manifestaciones músculo-esqueléticas.

Figura 1. Predominio femenino en edad fértil. Tomado de Cervera R et al. (6)



3. CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN

Clásicamente se distinguen 4 tipos de lupus. A parte del lupus con afectación sistémica (el que es objetivo de este estudio), están descritos otras formas como el lupus limitado exclusivamente a la piel (llamado lupus cutáneo o discoide), el lupus inducido por fármacos (procainamida, hidralazina, quinidina o anti-TNF) y el lupus

neonatal.

A la hora del diagnóstico, muchas de las enfermedades reumatológicas se caracterizan por la falta de test patognomónicos. Lo mismo ocurre con el LES, donde no existe una simple prueba que nos proporcione el diagnóstico de la enfermedad. Es más, debido a su naturaleza dinámica y a su curso impredecible, el diagnóstico del LES es complicado y se requiere en muchos casos un período de observación prolongado en el que se van sumando la aparición de distintos signos y síntomas antes de establecer el diagnóstico definitivo. De hecho muchos pacientes pueden estar años padeciendo la enfermedad, confundiéndose con otros síndromes como la artritis reumatoide, el síndrome de Sjögren o incluso la fibromialgia, hasta que puede establecerse un diagnóstico firme de LES. Se estima que esa demora diagnóstica podría rondar los 2 años (8).

La primera clasificación del LES fue elaborada en 1971 por un grupo de expertos de la “American Rheumatism Association” [el actual “American College of Rheumatology” (ACR)]. Estos criterios fueron ideados en su momento para su uso en ensayos clínicos, ayudando a diferenciar los pacientes que realmente padecían la enfermedad de los que no la padecían. En ese momento se seleccionaron 11 criterios dentro de todo el espectro clínico del LES, que por su frecuencia o especificidad se consideró que podrían ser útiles para hacer una clasificación diagnóstica homogénea.

Posteriormente, se han realizado 3 revisiones de esos criterios. La primera, en 1982 donde fueron revisados y validados, eliminando 2 antiguos criterios, el fenómeno de Raynaud y la alopecia, e incluyendo la detección de anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos anti-DNA (anti-DNA).

En segundo lugar, en 1997 el mismo grupo de expertos añadió a los criterios la presencia de anticuerpos anti-fosfolipídicos (AFF), eliminado el ítem inmunológico de células LE (9). Para el diagnóstico de LES era necesario reunir 4 de los 11 criterios, de forma simultánea o progresiva, durante el periodo de observación (tabla 1). Esta última revisión se basó en un consenso de expertos por lo que no fue validada como tal.

Tabla 1. Clasificación ACR revisada del 1997 del Lupus Eritematoso Sistémico(9).

Criterio	Definición
Rash malar	Eritema fijo, plano o sobre elevado, sobre eminencias malares, que tiende a respetar los surcos nasolabiales
Rash discoide	Placas eritematosas sobreelevadas con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular. En las lesiones más antiguas pueden aparecer cicatrices atróficas
Fotosensibilidad	Rash cutáneo como resultado de una reacción inusual a la exposición solar, referido por el paciente u observado por un clínico
Úlceras orales	Úlceras orales o nasofaríngeas, habitualmente indoloras, observadas por el clínico
Artritis	Artritis no erosiva de ≥ 2 articulaciones periféricas, caracterizada por dolor, tumefacción y derrame
Serositis	<ul style="list-style-type: none"> a. Pleuritis: historia sugerente de dolor pleurítico o roce pleural evidenciado por el clínico o evidencia de derrame pleural b. Pericarditis: documentada por ECG, roce pericárdico o evidencia de derrame pericárdico
Afectación Renal	<ul style="list-style-type: none"> a. Proteinuria persistente $> 0,5\text{g/día}$ o >3 cruces en el sistemático de orina, si no se realiza cuantificación b. Cilindros celulares: de hematíes, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos
Afectación neurológica	<ul style="list-style-type: none"> a. Crisis: en ausencia de tóxicos o alteraciones metabólicas conocidas (uremia, cetoacidosis o alteraciones electrolíticas) b. Psicosis: en ausencia de tóxicos o alteraciones metabólicas conocidas (uremia, cetoacidosis o alteraciones electrolíticas)
Afectación b. hematológica	<ul style="list-style-type: none"> a. Anemia hemolítica con reticulocitosis o b. Leucopenia $< 4000/\text{mm}^3$ en ≥ 2 determinaciones o c. Trombopenia $< 100.000/\text{mm}^3$ en ausencia de fármacos causales
Afectación inmunológica	<ul style="list-style-type: none"> a. Anti-DNA a títulos anormales o b. Presencia de anti-Sm o c. AFF positivos basados en: <ul style="list-style-type: none"> -Niveles anormales de ACL IgG o IgM o -AL positivo utilizando un método estándar o -Test serológicos falsamente positivos de sífilis (VDRL) durante al menos 6 meses y confirmado por test específicos (TPHA o FTA-ABS) negativos
ANA	Título anormal de ANA medidos por inmunofluorescencia o un método equivalente, en cualquier momento, tras descartar la presencia de fármacos asociados con síndrome de lupus inducido por fármacos

***Son requeridos al menos 4 criterios para clasificar a un paciente como LES**

ACL: anticuerpos anticardiolipina; AFF: anticuerpos antifosfolípidicos; AL: anticoagulante lúpico; ANA: anticuerpos antinucleares; Anti-DNA: anticuerpos frente al DNA; Anti-Sm: anticuerpos frente al antígeno Sm; ECG: electrocardiograma; FTA-ABS: "Fluorescent treponemal antibody absorption"; IgG: inmunoglobulina G; IgM: inmunoglobulina M; TPHA: "Treponema Pallidum Haemagglutination"; VDRL: "Venereal Disease Research Laboratory"

Estos criterios tienen una alta sensibilidad (>85%) y especificidad (>95) para identificar pacientes con una enfermedad establecida desde hace tiempo. Sin embargo tienen como limitación que los pacientes con enfermedad precoz o limitada a pocos órganos podrían quedar excluidos del diagnóstico. Por este motivo, no se deberían aplicar de forma regular en la práctica clínica diaria. Otro defecto que se le ha atribuido a esta clasificación es el mismo valor que se le da a los distintos criterios por igual y la aparición de las manifestaciones cutáneas hasta en 4 ítems. Algunos autores defienden al respecto que se le debería dar más importancia a la afectación renal, las citopenias o el rash discoide frente a otros criterios diagnósticos.

Recientemente, el grupo internacional SLICC (“Systemic Lupus International Collaborating Clinics”) ha realizado una nueva revisión, basándose en unos criterios metodológicos estrictos e incorporando los últimos avances científicos sobre la enfermedad (10). En esta última revisión se identificaron 17 ítems, 11 clínicos y 6 inmunológicos, teniendo que cumplirse 4 de los mismos para el diagnóstico (de forma acumulada, no simultáneamente), con al menos un criterio clínico y otro inmunológico, o estar diagnosticado de nefritis lúpica confirmada por biopsia, en presencia de anticuerpos ANA o anti-DNA positivos (anexo 1).

Comparando los criterios de clasificación SLICC frente a los ACR del 1997, se ha visto que estos poseen una mayor sensibilidad, mientras que la especificidad es similar.

4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD Y DEL DAÑO ESTRUCTURAL

El LES se caracteriza por un curso crónico que alterna periodos de exacerbación (brotes) y periodos de menor actividad o ausencia de la misma. Es más, durante un mismo brote no tienen por qué afectarse por igual todos los órganos, pudiendo estar muy activos algunos y otros por el contrario estar asintomáticos en ese momento. Por ello, a la hora de la toma de decisiones terapéuticas, es muy útil para el facultativo la evaluación del grado de actividad global y de la órgano específica en cada momento.

Se define remisión como una actividad suficientemente baja como para no causar daño ni síntomas significativos. En función del curso alternante de brotes de actividad y períodos de remisión, existen descritos varios patrones clínicos de la enfermedad. El patrón persistente se caracteriza por la presencia continuada de la enfermedad sin apenas periodos de remisión completa. El patrón recidivante/remitante cursa alternando brotes intermitentes con periodos intercurrentes de remisión más o menos duraderos. Un patrón menos frecuente es el monofásico, en el que tras un solo brote le sigue una remisión prolongada. Por último, el patrón de quiescencia prolongada se caracteriza por una remisión duradera de más de 5 años tras uno o más brotes. Casi todos los pacientes que consiguen una remisión prolongada han tenido previamente un curso recidivante/remitante (61%) o monofásico (18%). En menos de un 10% se precedería de una enfermedad crónicamente activa.

Como en toda enfermedad crónica, es importante diferenciar el concepto de actividad del de daño residual ya que van a tener implicaciones pronósticas y terapéuticas distintas. La inflamación es un fenómeno variable a lo largo del curso de la enfermedad y que va a depender de la intensidad de cada exacerbación y del órgano afectado en ese momento, mientras que el daño estructural provocado se va acumulando a lo largo del tiempo. Por tanto, algunas de las manifestaciones clínicas de la enfermedad pueden sucederse durante los brotes de actividad mientras que otras pueden ser debidas en parte a las secuelas de los anteriores brotes. Es más, con frecuencia es difícil diferenciar cuándo una manifestación se debe a la actividad de la enfermedad, a las secuelas orgánicas a una complicación infecciosa, por toxicidad farmacológica o por comorbilidad del paciente.

Para cuantificar la actividad existen varios índices validados, tanto globales como órgano específicos (11-13), que han demostrado ser predictores de daño y mortalidad y que son capaces de reflejar cambios en la actividad de la misma. Estos instrumentos fueron creados en un principio para su uso en investigación. Sin embargo, hoy en día se recomienda su empleo en práctica clínica para cuantificar el grado de actividad con vistas a la toma de decisiones terapéuticas y para la evaluación de la respuesta a las terapias. Entre estos índices se encuentran: “British

Isles Lupus Assessment Group Scale” (BILAG), “European Consensus Lupus Activity Measure” (ECLAM), “Lupus Activity Index”, “National Institutes of Health SLE Index Score”, “Systemic Lupus Activity Measure” (SLAM) y “Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index” (SLEDAI). Ninguno de ellos está internacionalmente aceptado pero los más empleados en práctica clínica son el SLEDAI, BILAG (anexo 3) y SLAM. Existe una versión corregida del SLEDAI, desarrollada por *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus: National Assessment trial* (SELENA-SLEDAI) (anexo 4) (14, 15), que mejora la falta de sensibilidad al cambio. Esta variante es eficaz para la definición de brote, pero no así para la de respuesta, que sigue dependiendo de los cambios de puntuación observados en la versión clásica.

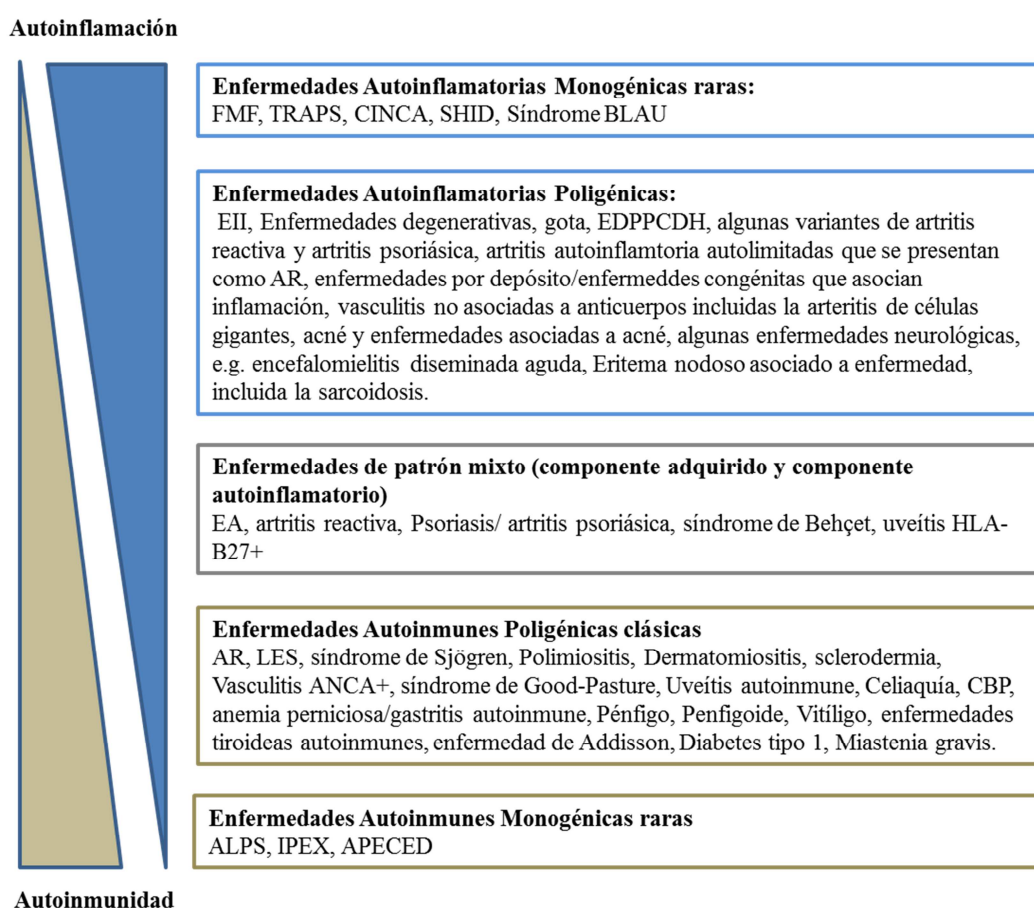
La mayoría de ellos tiene como inconveniente que proporcionan un índice global de actividad, sin distinguir si el resultado es debido a la suma de varios ítems leves o secundaria a una enfermedad grave en uno o varios órganos. Por el contrario, el BILAG si realiza una valoración individualizada de cada órgano o sistema y nos informa de si la enfermedad está mejor, peor, igual o si la sintomatología ha aparecido como nueva en el último mes. Sin embargo, es un índice poco popular debido a que es relativamente engorroso de realizar en práctica clínica.

En cuanto a la determinación de las secuelas de la enfermedad, existe un índice validado para medir el daño acumulado por los pacientes desde el comienzo del LES, ya sea el causado por la actividad de la enfermedad como el secundario a los fármacos empleados, comorbilidades o una combinación de todo ello. Este índice es el “Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR damage index” (SDI) (16) (anexo 2) que, al contrario de lo que ocurre con los índices de actividad, es una herramienta internacionalmente aceptada. Evalúa los cambios irreversibles en 12 órganos o sistemas con el requisito de que los cambios estructurales deben de estar presentes durante al menos 6 meses. Este índice es un importante predictor de mortalidad. Actualmente no existe un índice que evalúe exclusivamente el daño producido por los fármacos.

5. PATOGENIA Y PAPEL DE LAS CÉLULAS B

Dentro de la clasificación de McGonagle, en la que se ordenan las enfermedades inflamatorias crónicas según el grado de importancia que tenga en su patogénesis la participación de la autoinmunidad/autoinflamación y la genética, el LES se engloba entre las enfermedades autoinmunes poligénicas clásicas, junto con otras enfermedades afines como la artritis reumatoide, en las cuales predomina el componente autoinmune sobre el autoinflamatorio (figura 2).

Figura 2. Clasificación de Mc. Gonagle de las IMID. Modificado de McGonagle y McDermott(17)



APECED: Autoimmune polyglandular syndrome type 1; ALPS: autoimmune lymphoproliferative syndrome; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos; AR: artritis reumatoide; CBP: cirrosis biliar primaria; CINCA: chronic infantile neurologic cutaneous and articular syndrome; EA: espondilitis anquilosante; EDPPCDH: enfermedad por depósito de pirofosfato cálcico dihidratado; EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal; FMF: Fiebre Mediterránea Familiar; HLA-B27: antígeno de histocompatibilidad B27; IPEX: immunodysregulationpolyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome; LES: lupus eritematoso sistémico; SHID: periodic fever and hyperimmunoglobulin D syndrome; TRAPS: tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome

El LES se caracteriza por una autorreactividad descontrolada de los linfocitos B y T que conduce a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra autoantígenos (la mayoría de origen nuclear) presentes en prácticamente todos los tipos celulares, por lo que se produce un daño en distintos órganos y tejidos. Es por tanto un trastorno no-órgano-específico, a diferencia de otras enfermedades autoinmunes como la tiroiditis de Hashimoto o la esclerodermia.

La patogénesis concreta sigue siendo desconocida y ha sido objeto de múltiples revisiones (18-21). Se conoce que la enfermedad es fruto de una compleja interacción entre factores genéticos y ambientales, en el contexto de un ambiente hormonal favorable. La interacción de todos estos factores se rige por un modelo estocástico, donde cada variable tiene su propia función de probabilidad, pudiendo existir correlaciones entre ellas. Se cree que en individuos genéticamente predispuestos, a lo largo de los primeros años de vida, se produce una interacción aleatoria de distintos factores ambientales que desencadenan la activación de sistema inmune, creando una disfunción de la respuesta inmune innata y adaptativa que da lugar a la pérdida de tolerancia a auto-antígenos (figura 3). Esta autorreactividad descontrolada se va haciendo cada vez más agresiva, creando más auto-anticuerpos que acaban formando inmunocomplejos que quedan atrapados en los tejidos y van produciendo un daño. Este daño es inicialmente subclínico hasta que se sobrepasa un límite que es conocido como “umbral de desventaja”, tras lo cual los trastornos inmunológicos acumulados hasta entonces son lo suficiente potentes como para expresarse mediante síntomas y signos. Esta disfunción inmunológica tiende a amplificarse a lo largo del tiempo si no se interviene sobre ella (figura 4).

Figura 3. Modelo estocástico de la patogénesis del LES. Modificada de Liu & Davidson(18)

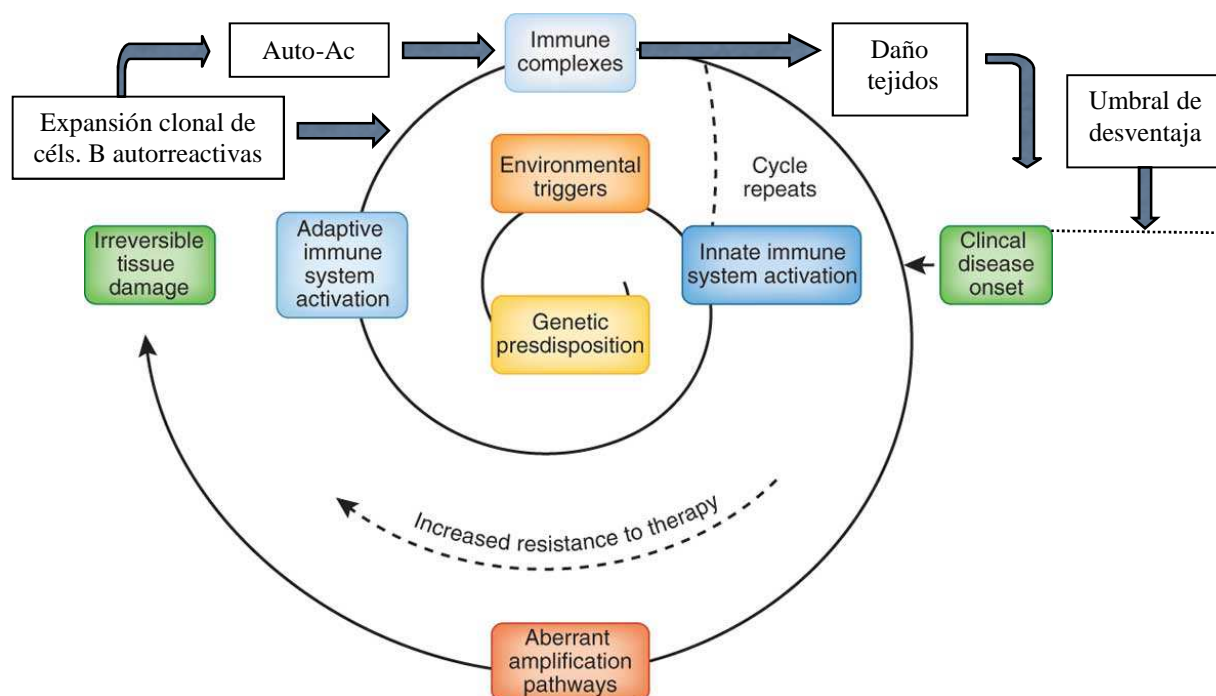
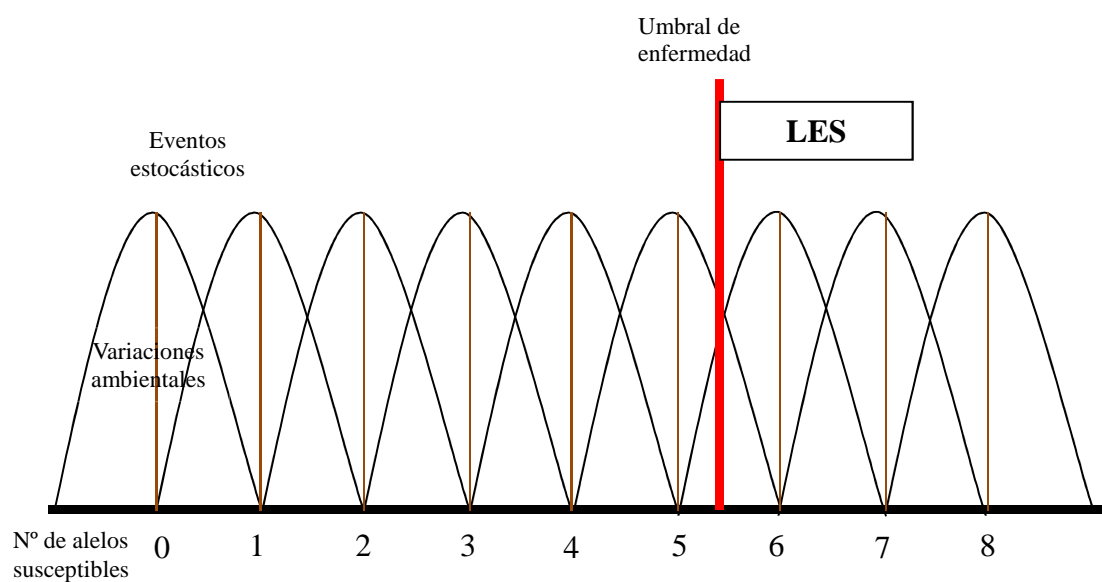


Figura 4. Modelo de umbral de desventaja en la patogénesis del LES



5.1. Factores genéticos

Aunque la mayoría de los casos del LES son esporádicos se sabe, que al igual que en otras IMID, existe cierta agregación familiar entre los familiares de primer grado. Por otro lado el hecho de que exista una alta concordancia entre gemelos homocigotos (25-50%) y baja entre dicigotos (5%), sugiere que existe una predisposición genética poligénica (21). Se estima que son necesarios al menos 4 genes para el desarrollo de la enfermedad.

Las técnicas encaminadas a identificar qué genes están involucrados en la enfermedad han ido variando a lo largo de los años. En la actualidad se dispone de escaneos del genoma completo en estudios de asociación clínica, que se conocen como *Genome-wide association study* (GWAS). Esta herramienta tiene como limitación que identifica polimorfismos comunes en las poblaciones estudiadas, no siendo capaz de detectar alguna mutación rara en la población general pero que pudiera ser frecuente en los pacientes con LES.

En humanos se conocen varias deficiencias genéticas monogénicas, que afectan entre otros a componentes de la vía clásica del complemento o a nucleasas intracelulares, y que están fuertemente relacionadas con los casos de LES. De entre todos los polimorfismos genéticos, los que más influyen en la predisposición al lupus son los ligados al HLA, sobre todo los de clase II (especialmente HLA DR2 y HLADR3) y de clase III, y en particular los que codifican componentes del complemento C1, C1q inhibidor, C2 y C4. Se cree que estos polimorfismos de las moléculas de HLA causan una presentación aberrante de los antígenos que implica una pérdida de tolerancia de las células T.

Se han estudiado otras numerosas deficiencias con una menor carga genética en el desarrollo de la enfermedad (22) como FcR2A, Factor 5 de regulación del interferón (IFR5), *protein tyrosin phosphatase 22* (PTPN22), BLK, ITIGAM, entre otros. La mejora en el conocimiento de cada polimorfismo permitirá en un futuro la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Por último, de todos estos estudios genéticos se ha concluido que algunos

polimorfismos son compartidos por distintas IMID y que no todos los genes de riesgo están presentes en los principales grupos raciales.

5.2. Factores ambientales

Están descritos numerosos factores ambientales asociados al desarrollo del LES (23). Uno de los agentes más conocidos precipitantes de lupus y de brote lúpico es la luz ultravioleta y en especial la UVB. Se relaciona con fotosensibilidad especialmente en pacientes con anticuerpos anti-Ro y anti-RNP. Se cree que la radiación ultravioleta induce la apoptosis de los queratinocitos creando en su superficie “ampollas” rellenas de antígenos nucleares y citoplasmáticos capaces de inducir autoinmunidad(24).

En algunos estudios, ciertos tóxicos ambientales como las aminas aromáticas (presentes en numerosos compuestos agrícolas e industriales), los tintes permanentes del cabello o el tabaco se han asociado con el desarrollo del LES. Concretamente, el tabaco se ha relacionado directamente, con un incremento de riesgo que oscila entre 1,95 y 6,69. Sin embargo, el consumo de alcohol no parece influir de forma significativa (25-27).

Son varios los fármacos capaces de desarrollar una variante de la enfermedad denominada lupus inducido por fármacos. Se trata de una reacción adversa mediada inmunológicamente en individuos predispuestos (normalmente acetiladores lentos) y que se expresa mediante un número limitado de manifestaciones clínicas del LES junto con ANA+ y la especificidad de anticuerpos anti-histona. Normalmente las manifestaciones cesan con la suspensión del fármaco. Entre estos fármacos, los relacionados con el mayor riesgo de aparición de LES son la procainamida y la hidralazina y de riesgo moderado la quinidina (28). Recientemente se han descrito casos relacionados con el uso de inhibidores del factor de necrosis tumoral α (anti-TNF α), que paradójicamente se emplean en el tratamiento de numerosas enfermedades autoinmunes (29-31). Parece que los anti-TNF pudieran actuar como desencadenantes del LES subclínico.

Otros factores menos claros son las infecciones virales y en particular la infección por virus Epstein-Bar (VEB) que se cree que pudiera desencadenar o causar brotes de

LES mediante la activación de células B y mimetismo molecular. Algunos estudios de casos-contrroles en niños y adultos jóvenes han observado cierta asociación (32) mientras que los resultados de estudios posteriores no concuerdan con dichos hallazgos (33).

5.3. Ambiente hormonal

La clara predilección del LES por el sexo femenino durante el período fértil apunta hacia la influencia de las hormonas en el desarrollo de la enfermedad. Existen estudios que muestran que las hormonas no parecen tener gran importancia en el inicio del LES pero sí contribuyen formando un ambiente interno propicio para el desarrollo de la enfermedad en personas predispuestas. El hecho de que los pacientes con síndrome de Klinefelter (hipogonadismo hipergonadotrófico XXY) sean más propensos a desarrollar lupus o que el tratamiento hormonal sustitutivo o los anticonceptivos hormonales se asocien con un leve incremento en el desarrollo del LES (34, 35), son datos que apoyan aún más esta teoría. Es más, los cambios hormonales bruscos como los que supone el embarazo, puerperio, la inducción de la ovulación para una FIV (fecundación in vitro) o la administración de estrógenos y progestágenos exógenos en mujeres lúpicas postmenopáusicas (15), pueden desencadenar un brote de lupus. Por el contrario, algunos pacientes experimentan una mejora de la enfermedad después de la menopausia. Sin embargo, el tratamiento con hormonas masculinas no ha demostrado claros beneficios.

Por otro lado se han demostrado anomalías en el metabolismo hormonal de los pacientes con LES, de ambos sexos, con una mayor formación de derivados estrogénicos 16- α -hidroxilados (con mayor potencia feminizante) y menor concentración plasmática de andrógenos. Todos estos cambios parece que prolongan la supervivencia de las células autoinmunes, aumentan la producción de citokinas Th2 y estimulan la producción de autoanticuerpos por las células B (36). Así mismo, se ha observado una correlación entre los niveles de prolactina y la actividad del LES.

5.4. Inmunopatogénesis

Se han identificado 3 vías principales en la patogenia de la enfermedad: un aclaramiento aberrante de los detritos celulares que contienen ácidos nucleicos e inmunocomplejos, una excesiva activación inmune innata en la que participan los receptores Toll-like (TLR) y el interferón tipo I (IFN) y una activación anormal de los linfocitos B y T.

5.4.1. Alteración de la respuesta inmune innata

La importancia de la inmunidad innata en la patogénesis del LES y otros trastornos autoinmunes ha sido subestimada durante muchos años hasta que recientemente ha salido a la luz la relevancia que tiene en el proceso de la iniciación.

La respuesta inmune innata no sólo supone la primera línea de defensa del organismo frente a la entrada de microorganismos, sino que también se encarga de la eliminación de los detritos generados por la apoptosis celular, evitando así la exposición de auto-antígenos al sistema inmunitario adaptativo y previniendo por tanto el desarrollo de autoinmunidad. Por tanto, se cree que un fallo en este sistema supone un exceso de auto-antígenos que interaccionan con receptores pro-inflamatorios como los Fc (FcR) o los TLR o las propias células innatas, presentándose de este modo fragmentos de DNA propio a las células T CD4+ como si fueran ajenos.

5.4.2. Alteración de la respuesta inmune adaptativa

El LES se caracteriza por una proliferación descontrolada de células B y T autorreactivas que lleva a la producción de auto-anticuerpos y formación de inmunocomplejos.

Aunque el número total de células T puede estar disminuido en los pacientes con LES, probablemente por presencia de auto-anticuerpos dirigidos contra ellas, las células T helper autorreactivas están aumentadas. Estas interaccionan con las células B estimulándose mutuamente. Las citokinas de las células T estimulan la división celular de las células B y cambian la producción de IgM a IgG de alta afinidad, que

en los pacientes con LES van dirigidos contra antígenos propios, especialmente de origen nuclear.

Esta proliferación de células T autorreactivas se ve potenciado en parte por la disfunción de las células T reguladoras encargadas normalmente de suprimir la proliferación de las células T helper. Otros mecanismos que contribuyen son determinados polimorfismos HLA (causando una presentación aberrante de auto-antígenos), alteraciones en la señalización, una menor activación de la citotoxicidad de las células TCD8 y un incremento en la expansión de las moléculas coestimuladoras CD40L y de las moléculas de adhesión CD44 en las células T CD4+ (23).

5.4.3. Papel de la célula B

Las células B tienen un papel central en la inmunopatogénesis del LES mediante la producción de autoanticuerpos y a través de las interacciones que mantienen con el resto de sistema inmunológico. La célula B presenta antígenos, promoviendo la activación, expansión y funcionalidad de las células T (37, 38). Así mismo, modulan la respuesta inmune mediante la producción de una serie de mediadores como citokinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6) e inmunomoduladoras (IL-10) (39). Es por todo esto que en las últimas décadas ha surgido un interés creciente en la creación de terapias encaminadas a deplecionar las células B, como el rituximab (40, 41).

La disfunción principal de la célula B en esta enfermedad es la pérdida de tolerancia a los antígenos propios (42). Dicha tolerancia se pierde por defectos en los distintos puestos de *check-point* (control) centrales y periféricos que tiene como misión eliminar, inactivar o reciclar las células B hacia otros subtipos no autoagresivos. De este modo, acaban produciéndose una serie de auto-anticuerpos dirigidos contra componentes nucleares, citoplasmáticos y de la superficie celular. Sin embargo cada vez se conoce más que las células B juegan un importante papel patogénico independiente de esta formación de auto-anticuerpos y que precede en años al debut clínico de la enfermedad (43). Algunos datos a favor de esta afirmación es por ejemplo, que en pacientes en tratamiento con rituximab (terapia deplectora de células B), se produce una mejoría clínica que se correlaciona con la depleción de células B,

que es anterior al descenso de los principales auto-anticuerpos (44).

5.4.3.1. Tipos de autoanticuerpos

Dentro los auto-anticuerpos se encuentran los ANA (anticuerpos anti nucleares), detectables en prácticamente todos los pacientes con LES, aunque no exclusivos de esta enfermedad. La incidencia de LES con ANA negativos se considera actualmente muy baja, en torno al 1% o menos, y muchos investigadores ponen en duda que verdaderamente pueda existir un LES con ANA negativos o si se trata de falsos negativos. Sin embargo, sí es frecuente encontrar casos de lupus limitado a la piel con ANA negativos.

Los ANA son muy inespecíficos y heterogéneos, ya que incluyen la detección de anticuerpos dirigidos contra muchos antígenos nucleares como DNA, RNA, proteínas o enzimas. Se pueden detectar por medio de IFI (inmunofluorescencia indirecta) o ELISA, siendo más específica la primera técnica. Es también importante la cantidad de ANA que se detecta, considerándose inespecíficas cifras inferiores a 1/160 (por IFI), especialmente en sujetos ancianos. Sus títulos no se correlacionan con el grado de actividad inflamatoria.

Al contrario que los ANA, los anticuerpos anti-DNA son específicos del LES y están dirigidos contra el DNA nativo o de doble cadena. Sus títulos fluctúan en función del grado de actividad inflamatoria de la enfermedad y algunos subtipos están relacionados con la aparición de patología renal. La presencia de anticuerpos dirigidos contra el DNA monocatenario es mucho menos específica y pueden encontrarse en sujetos normales.

Otro tipo de auto-anticuerpos son los ENA (anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo), que incluyen diferentes tipos de ANA con especificidades diferentes. Los más reconocidos son los anti-Ro (SS-A), anti-La (SS-B), los anti-U1RNP y los anti-Sm. Los anti-Ro y anti-La son frecuentes pero no específicos en el LES (aproximadamente 50% y 25% respectivamente). Los anti-Ro se relacionan en el LES con rash fotosensible (especialmente con lupus cutáneo subagudo) y en

menos medida con neumonitis intersticial. Tanto los anti-Ro como los anti-La pueden atravesar la placenta y ser transferidos al feto provocando el llamado lupus neonatal. Los anti-Sm son tan específicos de LES como los anti-DNA nativo y están dirigidos contra una pequeña ribonucleoproteína. Sus niveles permanecen constantes durante la evolución de la enfermedad por lo que no son útiles para monitorizar la actividad de la enfermedad.

Existen otros auto-anticuerpos como los anti-ribosomal P que se asocian con manifestaciones neuro-psiquiátricas del LES, en especial psicosis y los anti-U1RNP que, en ausencia de otros ENA, se relacionan con manifestaciones de solapamiento con otras enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide o la esclerodermia (45).

Por último, los AFL (anticuerpos antifosfolípidos), no son ANA sino una familia de anticuerpos dirigidos contra complejos moleculares formados entre fosfolípidos y proteínas plasmáticas. Son varios pero la mayoría son detectados mediante 3 pruebas diferentes: anticoagulante lúpico (AL), anti-cardiolipina (ACA) y anti- β 2-glicoproteína I ($\alpha\beta$ 2-GPI). El primero de todos es el más específico de los 3 y se detecta mediante pruebas de hemostasia especial, mientras que los otros 2 mediante ELISA. La presencia de estos anticuerpos en pacientes con LES se asocia fuertemente con trombosis recurrentes y/o complicaciones obstétricas, lo que se conoce como síndrome antifosfolípido (SAF) secundario. Este mismo síndrome puede presentarse en pacientes sin LES, lo que se denominaría SAF primario.

5.4.4. Mecanismos de daño tisular

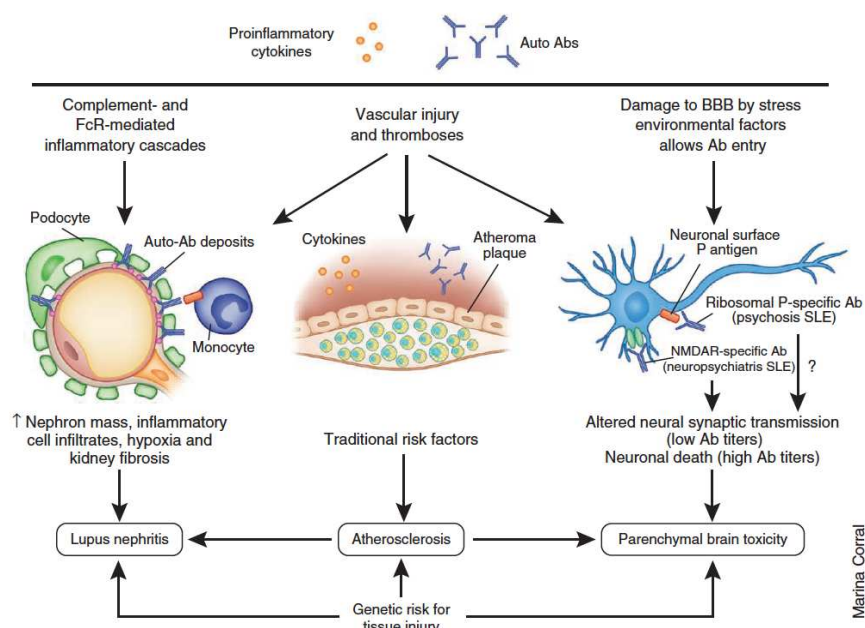
El LES induce el daño tisular a través de varios mecanismos, entre los que se encuentran el depósito de inmunocomplejos, los fenómenos inflamatorios y la vasculopatía (figura 5). Clásicamente se ha estudiado la patogénesis del LES a través de la presencia de inmunocomplejos autorreactivos. Éstos son agregados de Ag-Ac IgG e IgM de mayor tamaño de lo que el organismo puede eliminar, por lo que quedan atrapados en los tejidos (clásicamente en la piel, riñón y las articulaciones) induciendo una reacción de hipersensibilidad retardada de tipo III, basada en la activación de la vía clásica del complemento, los receptores FcR y los TLR

(induciendo la formación de IFN de tipo I) (46).

Como mencionábamos más arriba, otro tipo de mecanismo independiente de los fenómenos inflamatorios, son los anticuerpos antifosfolípidos. La presencia de estos anticuerpos se asocia con hipercoagulabilidad y fenómenos tromboticos, con el consiguiente daño tisular. Otros auto-anticuerpos, los anti-NMDARy los anti-ribosomales P, también producen un daño distinto al del inflamatorio, ya que no activan la vía del complemento ni se ligan a los FcR. Estos auto-anticuerpos se asocian con daño neuronal y psicosis ya que traspasan la barrera hematoencefálica y tienen una reactividad cruzada con algunas moléculas de superficie de las neuronas, alterando su función de forma transitoria o irreversible induciendo la muerte celular (según su concentración).

Por último, otra parte importante del daño que se produce en los pacientes con LES está mediado por la arteriosclerosis que, como sucede en otras enfermedades inflamatorias crónicas, se trata de un proceso arteriosclerótico acelerado debido a la propia actividad de la enfermedad sumado a los efectos adversos del uso de determinados fármacos (18, 47). En las últimas décadas se ha empezado a considerar la inflamación sistémica persistente como un factor de riesgo cardiovascular independiente. Todo esto sumado a la inactividad física de la mayoría de los pacientes, junto con los ya conocidos efectos adversos de los corticoides que clásicamente se usan en el tratamiento del LES, contribuiría en gran medida a esta arteriosclerosis acelerada. Recientemente este fenómeno se ha reconocido como responsable en parte de la mortalidad prematura de estos pacientes (debido a su relevancia, este tema se tratará de forma más exhaustiva en el apartado concreto de riesgo cardiovascular: ver más abajo).

Figura 5. Mecanismos de daño tisular en el LES. Tomado de Zheng Liu & Anne Davidson (18).



6. TRATAMIENTO

El tratamiento del LES se ha basado clásicamente en el uso de glucocorticoides, AAS, AINE, antipalúdicos y varios inmunosupresores. Todos estos agentes han mejorado notablemente el pronóstico de la mayoría de los pacientes pero con los inconvenientes de la toxicidad secundaria y la no respuesta a la terapia estándar en algunos casos. En los últimos años, el desarrollo de terapias biológicas dirigidas contra dianas concretas ha supuesto un gran avance en el manejo de las enfermedades reumáticas. Su aprobación para el tratamiento de la AR y otras artropatías inflamatorias ha incitado probar su uso en los pacientes con LES refractario. Son varios los fármacos biológicos que se han empleado en el LES fuera de indicación de ficha técnica (48). Sólo el belimumab está aprobado para su uso específico en LES.

El manejo del LES requiere una evaluación integral del grado de actividad y del daño acumulado a lo largo del curso de la enfermedad, así como una adaptación del tratamiento en función de los órganos afectados y la severidad. La actividad es una variable que fluctúa en el tiempo por lo que es necesario hacer una monitorización

continua estandarizada con instrumentos validados para ese fin (ver apartado concreto de índices de actividad y daño en el LES).

Los objetivos terapéuticos son la estabilización de la enfermedad, controlando la actividad, previniendo la aparición de nuevos brotes y evitando el desarrollo de daño tisular irreversible. En la medida de lo posible se deben poner los medios para minimizar los efectos secundarios de las terapias empleadas. El objetivo terapéutico ideal es la respuesta clínica completa, caracterizada por la ausencia de actividad y la suspensión del inmunosupresor y el corticoide, o al menos el mantenimiento de una mínima dosis ($\leq 5\text{mg/día}$ de prednisona o equivalente). Si este objetivo no es posible, se debería alcanzar la mínima actividad tolerable.

Generalmente el manejo de la enfermedad lo marca la afectación de órganos principales (afectación visceral). En los casos de enfermedad leve sin afectación visceral, se emplean agentes con menos efectos secundarios, como los corticoides, antimaláricos o los AINE, mientras que los inmunosupresores/citotóxicos se reservan para casos de enfermedad moderada-severa con afectación visceral (tabla 2).

Taba 2. Indicaciones por órganos y sistemas de las terapias inmunosupresoras en LES (49)

Manifestación clínica	Indicación
General	Afectación de órganos principales o afectación extensa de órganos no principales refractaria a terapias de primera línea (ej: piel)
	Ineficacia o incapacidad para disminuir dosis de corticoides hasta una dosis aceptable para el mantenimiento a largo plazo
Renal	Nefritis proliferativa o membranosa
	Trombocitopenia severa (plaquetas $< 20.000/\mu\text{l}$)
Hematológico	Púrpura trombótica trombocitopénica
	Anemia hemolítica severa a aplasia o neutropenia inmune que no responde a corticoides
Pulmonar	Neumonitis lúpica o hemorragia alveolar
Cardíaco	Miocarditis con función ventricular izquierda deprimida
	Pericarditis con taponamiento inminente
Gastrointestinal	Vasculitis abdominal
Neuro-LES	Mielitis transversa, cerebritis, psicosis refractaria a corticoides. Mononeuritis múltiple, neuropatía periférica severa

En resumen, el tratamiento del LES debe ser individualizado en función de la situación clínica y la gravedad de sus manifestaciones.

6.1. Glucocorticoides

El descubrimiento de los glucocorticoides como herramienta terapéutica supone uno de los avances médicos más relevantes del siglo 20. Clásicamente se han empleado como fármacos esenciales en el control de las manifestaciones clínicas de las enfermedades reumatológicas.

Se pueden administrar vía oral, intravenosa o intra-articular. El rango de dosis varía entre 0,5-1 mg/kg peso/día (tabla 3). En caso de brote severo se administran pulsos intravenosos de metilprednisolona, 1000 mg/día durante 3 días para inducir remisión de la actividad de la enfermedad.

Tabla 3. Terminología de dosis de glucocorticoides en reumatología (49)

Baja dosis	$\leq 7,5$ mg prednisona o equivalente por día
Dosis media	$>7,5$ y ≤ 30 mg prednisona o equivalente por día
Dosis alta	>30 y ≤ 100 mg prednisona o equivalente por día
Dosis muy alta	>100 mg prednisona o equivalente por día
Pulsos intravenosos	≥ 250 mg prednisona o equivalente por día durante 1-varios días

Las manifestaciones de las enfermedades inflamatorias reumatológicas tienen un ritmo diurno. Los pacientes se quejan de una mayor intensidad de la rigidez articular y otros síntomas en las primeras horas de la mañana. Esto es debido al periodo de descanso nocturno que favorece la formación de edema en las articulaciones inflamadas y al ritmo circadiano del cortisol (50). Sin embargo, los estudios que relacionan el horario de administración de los glucocorticoides con su eficacia y los efectos adversos son equívocos. En general se concluye que es razonable administrarlos por la mañana para disminuir en la manera de lo posible la supresión hipofisaria-adrenal (51). Otro tipo de posología que se ha investigado, sobre todo en los casos de requerimientos de altas dosis durante un largo período de tratamiento, son los regímenes de días alternos de glucocorticoides. Sin embargo, este tipo de administración fracasa en la mayoría de los pacientes reumatológicos y su uso se

reserva prácticamente a la artritis idiopática juvenil para minimizar el déficit de crecimiento.

No todos los pacientes reaccionan de la misma manera ni tienen la misma susceptibilidad a los efectos adversos de los glucocorticoides. Una pequeña proporción de pacientes no responden a altas dosis. Se conocen varios factores implicados en esta variabilidad de respuesta. Algunos polimorfismos del gen del receptor de glucocorticoides, concretamente un aumento de expresión de la forma β del receptor, se ha relacionado con una resistencia a los glucocorticoides (52).

Por otro lado, la mayoría de las acciones inmunosupresoras de los corticoides se realizan a través de la inhibición de la producción de citokinas. Sin embargo, elevadas concentraciones de las mismas a nivel local, sobre todo de IL2, actúan antagonizando ese efecto inmunosupresor de manera dosis dependiente, creando una resistencia localizada a los glucocorticoides (53).

Debido a sus potenciales efectos adversos, el uso de glucocorticoides debe realizarse con cautela. Se debe iniciar una reducción de dosis en cuanto se consigue controlar la actividad de la enfermedad. La disminución debe realizarse cuidadosamente para evitar recurrencia de nuevos brotes y mucho menos frecuentemente, para evitar una deficiencia de cortisol debido a la supresión crónica del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. Una pauta descendente permite una recuperación de la función suprarrenal. No existe sin embargo un esquema fijo establecido para la disminución de dosis, sino que ésta va a depender de la susceptibilidad de cada paciente, de la dosis empleada y el tiempo de duración de la terapia.

En la mayoría de las enfermedades inflamatorias reumatológicas, incluido el LES, se usa una combinación de glucocorticoides con otros agentes inmunosupresores como metotrexato, azatioprina o ciclofosfamida. En fases tempranas de la enfermedad este esquema se usa si se tienen nociones de que la combinación es más eficaz que la monoterapia o en caso de refractariedad a altas dosis de glucocorticoides. Por el contrario en estadios más avanzados, el fin de la combinación es permitir una mayor reducción de dosis de corticoides para minimizar los efectos adversos de su administración prolongada. Es lo que se denomina agentes ahorradores de

glucocorticoides. En estos casos, los fármacos más frecuentemente usados son el metotrexato y la azatioprina.

Los glucocorticoides pueden provocar una amplia gama de efectos adversos (tabla 4), muchos de los cuales no pueden evitarse. El riesgo de estas complicaciones es dosis y tiempo dependiente. Sin embargo, llama la atención que algunos pacientes desarrollan efectos adversos tras dosis bajas de glucocorticoides y no le ocurre lo mismo a pacientes tratados con mayores dosis, lo que pone de manifiesto la variabilidad en la susceptibilidad a estos fármacos que comentábamos anteriormente. Por el contrario, esta susceptibilidad individual a los efectos adversos no parece corresponderse con una susceptibilidad paralela a los efectos beneficiosos de los mismos.

Tabla 4. Resumen de los efectos adversos más frecuentes del uso de glucocorticoides(49)

Sistema	Efectos adversos
Locomotor	Osteoporosis/ Osteonecrosis/ Miopatía esteroidea
Gastrointestinal	Úlcera péptica*/ Pancreatitis/ Hígado graso
Inmunológico	Predisposición a infecciones/ Hipersensibilidad retardada reducida [#]
Cardiovascular	Retención hídrica/ HTA/ Arteriosclerosis acelerada/ Arritmias
Ocular	Glaucoma/ Cataratas
Cutáneo	Atrofia cutánea/ Estrías/ Equimosis/ Acné/ Hirsutismo/ Giba de búfalo/ Cicatrización tórpida
Endocrino	Aspecto Cushingoide/ DM/ Alteraciones metabolismo lipídico/ Aumento de apetito/ Aumento de peso/ Inhibición del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal/ Inhibición de hormonas gonadales/ Alteraciones electrolíticas
Conductual	Insomnio/ Psicosis/ Labilidad emocional

*En combinación con AINE; [#] Test de Mantoux; DM: diabetes mellitus; HTA: hipertensión arterial

6.1.1. Efectos adversos sobre el aparato locomotor

La osteoporosis por corticoides es uno de los efectos adversos más estudiados de estos fármacos. Los pacientes con LES, así como en otras conectivopatías, tienen un riesgo añadido no sólo por el uso de corticoides sino por la propia actividad inflamatoria crónica que favorece la desmineralización ósea. Existen guías

internacionalmente aceptadas para minimizarla (54).

En el LES y en especial en niños, altas dosis de corticoides (>30 mg de prednisona o equivalente) se han relacionado con casos de osteonecrosis. Sin embargo, la osteonecrosis también puede suceder como complicación del propio lupus. Parece que los mecanismos involucrados podrían ser vasculares, ya sea a través de micro-émbolos grasos que provocan isquemia o mediante pinzamiento del lecho vascular por el aumento de presión intraósea debido al acúmulo de grasa. El riesgo aumenta con la terapia en pulsos intravenosos y las articulaciones más afectadas son la cadera y la rodilla, seguidos del tobillo y hombro.

Por último, la miopatía esteroidea se caracteriza por debilidad en la musculatura proximal, en especial de los miembros inferiores, que puede sucederse tras semanas o meses de iniciar la terapia esteroidea o tras un aumento de la dosis de los mismos. Ocurre casi exclusivamente en pacientes tratados con altas dosis (>30 mg de prednisona o equivalente). Este tipo de miopatía no eleva las enzimas musculares y no se acompaña de inflamación en los datos de anatomo-patológicos (55).

6.1.2. Efectos adversos gastrointestinales

Los estudios sobre seguridad gastrointestinal son poco concluyentes. Los glucocorticoides inhiben la producción de COX-2 sin bloquear la producción de COX-1 por lo que no tendrían por qué aumentar el riesgo de úlcera péptica. Sin embargo existen estudios en los que se ha encontrado un riesgo relativo de 2 de complicaciones pépticas graves en el tracto gastrointestinal superior (56). Cuando existe además un tratamiento concomitante con AINE, este riesgo aumenta a 4 (57).

Otros efectos adversos relacionados con los glucocorticoides son la colonización asintomática/ sintomática del tracto gastrointestinal superior por *Candida albicans*, en especial si existe tratamiento concomitante con otros inmunosupresores. La pancreatitis está descrita dentro de la lista de efectos secundarios pero también se puede dar como complicación del propio LES o en las vasculitis (58). Por último es importante tener en cuenta que los glucocorticoides pueden enmascarar los síntomas asociados a complicaciones gastrointestinales graves como peritonitis, retrasándose

su diagnóstico.

6.1.3. Efectos adversos inmunológicos

Estudios epidemiológicos relevan que con dosis diarias de 20 a 40 mg de prednisona o equivalentes, existe un mayor riesgo de infección (riesgo relativo de 1,3 a 3,6) mientras que las dosis inferiores no parecen correlacionarse con un mayor riesgo o sólo con un discreto incremento (59). Esta mayor susceptibilidad podría explicarse por los siguientes hallazgos. Parece que con dosis medias-altas de glucocorticoides la actividad bactericida y fungicida está disminuida (tanto en estudios in vitro como in vivo). Con dosis altas, se ha observado una disminución de la fagocitosis de neutrófilos y de la destrucción bacteriana in vitro, sin correlacionarse con los hallazgos in vivo.

6.1.4. Efectos adversos cardiovasculares

Debido a la relevancia de este apartado, se tratará de forma más extensa en el capítulo de riesgo cardiovascular del LES.

6.1.5. Efectos adversos oculares

Los glucocorticoides tienden a estimular la formación de catarata, con una odds ratio de 2,6 (60), en especial la subcapsular posterior (61) que puede desarrollarse tras sólo 2 años de tratamiento con 5 mg/ día de prednisona. Suelen ser bilaterales y progresar lentamente. En pacientes que reciben terapia diría con menos de 10 mg de prednisona, el porcentaje observado de catarata está en torno al 10%.

También aumentan el riesgo de glaucoma debido al aumento de presión intraocular. Sin embargo la terapia tópica ocular con glucocorticoides tiene mucho más efecto sobre la presión intraocular que la terapia sistémica (62). Este riesgo está aumentado en caso de historia familiar de glaucoma.

6.1.6. Efectos adversos dermatológicos

Los efectos adversos más destacados son el aspecto cushingoide, la fragilidad capilar, la equimosis, la atrofia cutánea, las estrías, los defectos en la cicatrización, el

acné, el hirsutismo (salvo en cuero cabelludo), la dermatitis perioral, la hiperpigmentación y los sofocos.

6.1.7. Efectos adversos endocrinos

La administración de glucocorticoides exógenos produce una supresión del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal por lo que, en esos casos, una discontinuación brusca de la terapia corticoidea puede conllevar una insuficiencia suprarrenal aguda, potencialmente letal (63). Solo está indicada la suspensión brusca de la terapia corticoidea sin pauta descendente en los casos de psicosis lúpica aguda y ulceración corneal por herpes virus, que puede progresar rápidamente a perforación de la córnea. La fatiga, debilidad, hipotensión ortostática, náuseas, vómitos, diarrea, hiporexia, artralgias y mialgias son algunos de los síntomas inespecíficos de una hipofunción suprarrenal crónica. Sin embargo, la hipopotasemia es infrecuente ya que la secreción de mineralocorticoides se mantiene intacta a través del eje renina-angiotensina-aldosterona.

Los efectos sobre el metabolismo lipídico y la resistencia a la insulina se tratarán conjuntamente en el capítulo de riesgo cardiovascular.

6.1.8. Efectos adversos conductuales

La psicosis lúpica esteroidea es infrecuente y normalmente se asocia con altas dosis de corticoides o terapia intravenosa en pulsos. El problema subyace en diferenciar si la psicosis es una complicación del propio LES, del tratamiento esteroideo o de ambos. Los síntomas psicóticos comienzan normalmente tras el inicio del tratamiento (60% en las primeras 2 semanas y 90% en las primeras 6), remitiendo de la misma manera tras la suspensión del tratamiento.

Existen descritos otros trastornos afectivos relacionados con la terapia esteroidea, de menor grado pero mucho más frecuentes, como son la irritabilidad, la depresión, la manía o el insomnio entre otros.

6.2. Fármacos modificadores de la enfermedad

Al igual que en otras enfermedades reumáticas, los FAME se usan en el manejo de algunas de las manifestaciones del LES.

Los antimaláricos, concretamente la hidroxicloroquina, se viene usando desde hace años para el tratamiento de los pacientes con LES. Las tasas de su uso en las distintas cohortes existentes varían del 35% al 65% (64-66). Generalmente son fármacos bien tolerados con una proporción riesgo-beneficio favorable (67, 68). Los estudios sugieren que son útiles para el tratamiento de las manifestaciones dérmicas y musculo-esqueléticas y que a largo plazo parece que son eficaces a la hora de reducir el número de brotes (69). Además, tienen efectos beneficiosos sobre los niveles séricos de colesterol total (70, 71). Por último, algunos estudios han mostrado que disminuyen la agregación plaquetaria (72) y que pueden disminuir el riesgo de eventos trombóticos en los pacientes con SAF (73, 74). Todo esto sumado a su escaso perfil tóxico, hace que se recomiende su uso en la mayoría de los pacientes con LES (75).

Aunque hay muchas evidencias que sustentan la efectividad del metotrexato en el tratamiento de la artritis reumatoide, existen menos datos acerca su empleo en LES. Se recomienda su uso como ahorrador de corticoides en pacientes con manifestaciones articulares y cutáneas sin compromiso visceral (manifestaciones extrarrenales no graves). Existen dos ensayos clínicos aleatorizados doble ciego, controlados con placebo, que mostraron que una dosis semanal de 15-20 mg durante 6 meses conseguía controlar los síntomas articulares y cutáneos, permitiendo reducir los requerimientos esteroideos (76, 77) y manteniendo un perfil de seguridad aceptablemente bueno.

La leflunomida se usa solo de forma ocasional para el tratamiento de los síntomas articulares. Existe escasa evidencia acerca de su uso para el tratamiento de las manifestaciones no renales del LES, ya que el único ensayo clínico doble ciego, controlado con placebo que se ha reportado incluye solo 6 pacientes (78).

6.3. Inmunosupresores

Los inmunosupresores se reservan para pacientes con compromiso visceral y como ahorradores de corticoides. La mayoría de ellos han sido estudiados en otro tipo de indicaciones (oncología, trasplantes u otras enfermedades autoinmunes), usándose en práctica clínica del LES fuera de indicación de ficha técnica. Su empleo supone además un desafío, ya que se debe hacer un balance entre las necesidades de su uso y los efectos secundarios de la inmunosupresión, en especial las infecciones.

Por lo general, las complicaciones graves tienden a tratarse con una terapia de inducción potente, que tiene como objetivo inducir la remisión frenando la actividad inmunológica, seguida de un período de mantenimiento con fármacos menos tóxicos, para consolidar esa remisión y prevenir nuevos brotes (tabla 5).

Tabla 5. Recomendaciones de las terapias inmunosupresoras en LES(49)

Severidad	Terapia Inducción	Terapia Mantenimiento
Leve	Altas dosis CORTICOIDES (prednisona 0,5-1mg/kg/d durante 4-6 semanas con pauta descendente durante 3 meses) ± AZATIOPRINA (1-2 mg/kg/d) Si no remisión en 3 meses, tratar como moderado-severo	Bajas dosis de CORTICOIDES (prednisona ≤ 0,125mg/kg en días alternos) ± AZATIOPRINA (1-2 mg/kg/d) Considerar reducción progresiva de dosis de corticoides cada año de remisión
Moderada	MICOFENOLATO (2g/d) (o azatioprina) + CORTICOIDES (pauta de arriba) Si no remisión tras 6-12 meses tratar como severo o Pulsos de CICLOFOSFAMIDA ± pulsos de CORTICOIDES durante 6 meses (0,5 mg/kg/d por 4 semanas y posterior pauta descendente)	Si remisión con MICOFENOLATO en 6-12 meses, reducción de dosis de MMF cada año de remisión o Pulsos trimestrales CICLOFOSFAMIDA o AZATIOPRINA (1-2 mg/kg/d)
Severa	Pulsos mensuales de CICLOFOSFAMIDA + pulsos de CORTICOIDES por 6-12 meses Si no respuesta considerar RITUXIMAB o cambio a MICOFENOLATO	Pulsos trimestrales CICLOFOSFAMIDA durante al menos 1 año después de la remisión o AZATIOPRINA (1-2mg/kg/d) o MICOFENOLATO (1-2g/d)

6.3.1. Azatioprina

Los inmunosupresores menos tóxicos y más usados son la azatioprina y el micofenolato mofetil o su metabolito activo, el ácido micofenólico.

En ensayos aleatorizados controlados en pacientes con nefritis lúpica, la azatioprina no muestra superioridad en comparación con altas dosis de corticoides. En LES moderado-severo se usa como terapia de mantenimiento en dosis en torno a 1-3 mg/kg de peso/día, en especial en mujeres en edad fértil por su aceptable perfil de seguridad durante el embarazo. Aunque su suspensión por efectos adversos es común, en el LES es más frecuentes su discontinuación debido a una falta de eficacia. De hecho, a pesar de que es uno de los inmunosupresores más usados en combinación con esteroides para el tratamiento de las manifestaciones no renales del LES, en realidad existe poca evidencia que avale su uso. Existe un ensayo clínico aleatorizado, no ciego, no controlado, con un número escaso de pacientes con lupus con manifestaciones no renales, en el que no se demostró beneficio al añadir azatioprina al tratamiento esteroideo de base, tanto a corto como a largo plazo (79).

6.3.2. Micofenolato mofetilo

Tras la experiencia del uso de micofenolato mofetilo en trasplantes, se empezó a probar en pacientes con LES refractario a corticoides o agentes citotóxicos en pequeñas series de casos. Posteriormente, existen ensayos aleatorizados controlados en los que se comparan dosis de micofenolato de 1-3 g diarias frente a ciclofosfamida en pulsos u oral en la fase de inducción y mantenimiento de la remisión en pacientes con nefritis lúpica (80-83). En estos estudios se observan resultados de eficacia similares a la ciclofosfamida y con menores tasas de toxicidad. El micofenolato mofetilo es menos tóxico que la ciclofosfamida, no causa disfunción ovárica y es más aceptado por el paciente por lo que es una opción muy a tener en cuenta en especial en casos de mujeres fértiles.

Así mismo, el micofenolato mofetilo se ha usa también como tratamiento de otras manifestaciones del LES aparte de la nefritis proliferativa, como son la nefropatía membranosa, las manifestaciones cutáneas, la trombocitopenia refractaria o la hemorragia pulmonar. Sin embargo las evidencias disponibles acerca de su uso en manifestaciones no renales provienen de estudios de baja calidad y de la evaluación del objetivo secundario (manifestaciones no renales) del ensayo clínico aleatorizado diseñado para comparar el fármaco frente a la ciclofosfamida en el tratamiento de la

nefritis lúpica.

6.3.3. Ciclofosfamida

Varios ensayos aleatorizados controlados han mostrado que los pulsos intermitentes de ciclofosfamida intravenosa ($0,5-1 \text{ g/m}^2$) son eficaces para el tratamiento de la nefritis lúpica proliferativa moderada-severa, con un perfil de toxicidad mejor que la dosis diaria oral (84). Estudios posteriores han mostrado que la combinación de la terapia en pulsos con ciclofosfamida junto con metilprednisolona intravenosa mejoraba los objetivos de respuesta renal sin aumentar la toxicidad (85).

A parte de la nefritis proliferativa y membranosa, existen datos reportados de series de casos y estudios no controlados sobre la eficacia de la ciclofosfamida intravenosa en el tratamiento de otras manifestaciones graves del LES como trombocitopenia severa, enfermedad neurológica (86, 87), vasculitis abdominal, neumonitis aguda, hemorragia alveolar e hipertensión pulmonar secundaria al LES (88). En un ensayo controlado aleatorizado se confirmó la eficacia de la ciclofosfamida en el tratamiento de las manifestaciones neurológicas severas (89).

Sin embargo, el uso de la ciclofosfamida se está tendiendo a limitar a pesar de ser muy eficaz en la inducción de remisión de manifestaciones graves como nefritis, neurolupus o anemia hemolítica. Esto es debido a los datos sobre toxicidad ovárica (edad y dosis acumulada dependiente) (90), infecciones (en especial herpes zoster), carcinogénesis asociada, tasa de brotes (observados en aproximadamente un tercio de los pacientes), tasa de respuestas incompletas y en raros casos refractariedad al tratamiento, observados en los distintos estudios. De hecho existen investigaciones recientes (*Euro-Lupus Nephritis Trial*) sobre la eficacia de nuevas pautas de inducción con ciclofosfamida con reducción de dosis para minimizar su toxicidad (91). En estos estudios en los que se englobaron pacientes con enfermedad más leve, el régimen menos intenso de ciclofosfamida (6 pulsos bisemanales de 500 mg cada uno, en combinación con 3 dosis diarias de 750 mg de metilprednisolona intravenosa), seguido de terapia de mantenimiento con azatioprina, se mostró una eficacia comparable pero menor toxicidad que el ciclo corto con altas dosis de ciclofosfamida (8 pulsos).

6.3.4. Calcineurínicos

La ciclosporina y el tacrolimus actúan inhibiendo la función de las células T pero su uso está limitado por la importante nefrotoxicidad que provocan. Sin embargo, la ciclosporina sí se reserva para el uso en la nefritis membranosa a las dosis de 1-2 mg/kg peso. Existen datos que sugieren que también es eficaz en las manifestaciones de rash cutáneo, trombocitopenia, anemia aplásica o incluso datos comparativos con azatioprina a la hora de prevenir nuevos brotes tras la inducción con ciclofosfamida. Sin embargo, por su toxicidad anteriormente mencionada, su uso se restringe a la nefropatía membranosa.

A pesar de todo este arsenal terapéutico, algunos pacientes siguen siendo refractarios a los tratamientos estándar, sobre todo los que tienen manifestaciones renales o neurológicas que se asocian a un peor pronóstico. Todo esto ha motivado la búsqueda en los últimos años de nuevas terapias frente al LES.

6.4. Terapias Biológicas en el LES

Hasta ahora para el tratamiento del LES sólo estaban aprobados oficialmente la aspirina, la prednisona y los antimaláricos. Por primera vez en 50 años, la FDA (*the United States Food and Drug Administration*) y la EMA (*European Medicines Agency*) han autorizado el uso de un nuevo fármaco para el tratamiento del LES moderado-severo, el belimumab, una terapia biológica dirigida contra la célula B. Este hito probablemente suponga el inicio de una nueva era en el enfoque terapéutico de estos pacientes, basado en nuevos mecanismos de acción dirigidos contra dianas más específicas.

La eficacia demostrada de los anti-TNF α en el tratamiento de los pacientes con AR, incitó su estudio en el LES, pero debido a su capacidad de inducir autoinmunidad, su uso ha quedado restringido a los casos concretos en los que predomina la afectación locomotora.

El entendimiento de los mecanismos de alteración de la inmunidad celular en la patogenia del LES (fallo en el reconocimiento de antígenos propios con la

producción consecuente de auto-anticuerpos) ha focalizado el estudio de la célula B y T como posibles dianas terapéuticas de la enfermedad (41).

Sin embargo, las terapias dirigidas contra las células T se han descartado en un primer momento debido a los importantes efectos adversos observados. Están siendo llevados a cabo estudios clínicos controlados acerca de la interacción T-B, como los de CTLA4 Ig (abatacept), sugiriendo una posible mejoría en la afectación musculoesquelética de los pacientes con LES no severo (92). También se han descartado los anticuerpos anti-CD40 por su asociación con mayor trombosis (93) y los anti-CD154 por su ineficacia (94).

6.4.1. Terapias biológicas dirigidas contra la célula B

En los últimos años se han desarrollado las llamadas terapias deplectoras de células B, (DCB: *B-cell-depleting Therapy*). Éstas pueden provocar una depleción general, eliminando la mayoría de las células B circulantes o una depleción selectiva, eliminando solo una subpoblación determinada (95). En cualquier caso, existen 2 mecanismos a través de los cuales se puede producir esa depleción (tabla 4). Una de las vías es mediante la creación de anticuerpos monoclonales dirigidos contra marcadores de superficie específicos de las células B, provocando su apoptosis. Actualmente se dispone de anticuerpos dirigidos contra el receptor CD19, CD20 y CD22 (tabla 4). Dentro de este grupo, los que han sido más testados son los anticuerpos anti-CD20 (rituximab, ocrelizumab y ofatumumab), que producen una profunda depleción B. El receptor CD20 no se internaliza ni se desprende de la superficie celular y está presente casi exclusivamente en las células B salvo las subpoblaciones más inmaduras y células plasmáticas maduras.

El otro mecanismo indirecto de inactivación de la célula B es a través de la inhibición de los factores de supervivencia celular, como son el BLyS, mediante anticuerpos anti-BAFF (belimumab) y el APRIL (mediante el receptor atacicept). Belimumab tiene un efecto deplector más atenuado (96, 97) mientras que atacicept induce una depleción de una mayor franja de células B y plasmáticas, con el consecuente mayor riesgo de infecciones graves.

El uso de las terapias deplectoras de células B en práctica clínica está focalizado a pacientes con LES refractario a terapias convencionales o en casos de enfermedad grave amenazante.

Tabla 6. Principales características de las terapias deplectoras de células B.
Modificado de (40)

Fármaco	Tipo molécula	Diana	Mec. acción	Líneas cel. afectas
Rituximab	Ac. Monoclonal quimérico	Anti-CD20	Apoptosis/lisis céls. B	Desde céls. Pre-B a céls. memoria
Ocrelizumab	Ac. Monoclonal humanizado	Anti-CD20	Apoptosis/lisis céls. B	Desde céls. Pre-B a céls. memoria
Ofatumumab	Ac. Monoclonal humano	Anti-CD20	Apoptosis/lisis céls. B	Desde céls. Pre-B a céls. memoria
Epratuzumab	Ac. Monoclonal humano	Anti-CD22	Apoptosis/lisis céls. B	Céls. Maduras CD27
MEDI-551	Ac. Monoclonal humano afucosilado	Anti-CD19	Apoptosis/lisis céls. B	Desde céls. Pre-B a céls. plasmáticas
Belimumab	Ac. Monoclonal humano	BLyS inhibition	Bloquea BLyS y previene su unión con Rc de cél B	Desde céls. B inmaduras a céls. plasmáticas de corta vida
BR3-Fc	Proteína recombinante de fusión	BLyS inhibition	Bloquea BLyS y previene su unión con Rc de cél B	Desde céls. B inmaduras a céls. plasmáticas de corta vida
AMG-623	Proteína de fusión péptido-FC	BLyS inhibition	Bloquea BLyS y previene su unión con Rc de cél B	Desde céls. B inmaduras a céls. plasmáticas de corta vida
Atacicept	Proteína recombinante de fusión (TACI-Ig)	BLyS/APRIL inhibition	Unión a BLyS y APRIL	Desde céls. B inmaduras a céls. plasmáticas de larga vida
Anti-BR3	Ac. Monoclonal murino	Anti-BR3	Bloquea BLyS Rc3	NA

NA, No aplica; Ac: anticuerpo; Céls: células; Mec: mecanismo; Rc: receptor

6.4.2. Terapia biológica con indicación aprobada en LES:

Belimumab

El belimumab es un anticuerpo monoclonal humano soluble que inhibe al estimulador del linfocito B (BLyS o también llamado BAFF), una citokina clave para la supervivencia de los linfocito B y que está sobreexpresada en el LES(98-103).

En los primeros ensayos clínicos de dosificación de belimumab (96) no se obtuvieron resultados favorables puesto que no se consiguieron los objetivos de eficacia basados en el índice de actividad SELENA-SLEDAI a las semanas 24 y 52. Sin embargo, analizando los pacientes incluidos en este estudio, se observó que un 30% de ellos no tenían anticuerpos antinucleares en el momento basal, lo que puso en duda la validez de su inclusión como pacientes con LES. Un subanálisis posterior de los pacientes que sí reunían los criterios inmunológicos (296 pacientes con anticuerpos nucleares o anti-DNA positivos), mostró una mejoría substancial en relación con el tratamiento con belimumab, tanto de la actividad de la enfermedad como en la disminución del número de brotes durante el seguimiento a los 6 años, lo que se acompañó asimismo de una disminución de los requerimientos de corticoides.

Los ensayos clínicos que se han realizado posteriormente han demostrado en resumen resultados modestos pero positivos a favor del tratamiento con belimumab. En el BLISS-52 (104) se incluyeron 865 pacientes con marcadores inmunológicos positivos y enfermedad moderada-severa (SELENA-SLEDAI > 6) y se analizó la respuesta clínica a la semana 52 según en *SLE Responder Index* (SRI), definida como una reducción de ≥ 4 puntos en el SELENA-SLEDAI, ningún BILAG A, no más de un BILAG B y ausencia de empeoramiento en la valoración global del médico. Un 51% de los pacientes que recibieron belimumab a dosis de 1mg/kg alcanzaron el objetivo de respuesta clínica a las 52 semanas y un 58% de aquellos que recibieron dosis de 10mg/kg ($p = 0,013$ y $0,0006$ respectivamente), frente a un 44% de los pacientes que recibieron placebo. Así mismo se observaron mejorías modestas de los ítems clínicos.

En el BLIS-76 (105), un segundo ensayo clínico con un diseño similar pero doble ciego, se observó que de los 819 pacientes, un 41% de los tratados con belimumab a dosis de 1mg/kg y un 43% de los tratados con 10mg/kg, alcanzaron una respuesta favorable a las 52 semanas ($p=0,10$ y $p=0,21$), en comparación con un 34% de los pacientes con placebo. Por último, el análisis conjunto de los 1.864 pacientes de los 2 ensayos demostró mejoría de la actividad de la enfermedad y prevención de empeoramiento del daño en órganos internos (106).

Sin embargo, el hecho de que en los ensayos BLISS se excluyeran los pacientes con nefritis lúpica o aquellos con manifestaciones neurológicas graves, hace que no haya evidencias actuales que avalen el uso del belimumab en este tipo de pacientes. No obstante, en un análisis *post-hoc* de los ensayos fundamentales fase III, se ha observado un efecto beneficioso del belimumab sobre las medidas de desenlace renales en el caso de pacientes con afectación renal no grave (107). Así mismo, otros análisis *post-hoc* recientemente publicados han sugerido un efecto beneficioso sobre las manifestaciones cutáneas y musculoesqueléticas (106). Actualmente se considera una opción terapéutica razonable en caso de artritis o manifestaciones cutáneas refractarias a terapia estándar y con datos analíticos de actividad de la enfermedad.

Aunque el perfil de seguridad mostrado por belimumab en los ensayos clínicos fue bueno, todavía existe poca experiencia y se necesitan estudios de su uso a largo plazo.

6.4.3. Terapias biológicas usadas fuera de ficha técnica en LES

6.4.3.1. Antagonistas del TNF α

Los niveles plasmáticos de TNF α están muy aumentados en los pacientes con LES y se correlacionan con la actividad de la enfermedad (108). Sumado a la eficacia comprobada de los anti-TNF α en otras enfermedades reumatológicas como la AR, hizo pensar *a priori* que también podrían ser útiles en el tratamiento del LES.

Sin embargo, los 2 únicos ensayos clínicos con infliximab y etanercept se cerraron de forma prematura, por lo que los datos de los disponemos hoy en día se han obtenido de pequeños estudios abiertos no controlados o series de casos.

En resumen, debido a su capacidad de inducir autoinmunidad, su uso ha quedado restringido a casos muy concretos, como el caso de nefritis lúpica refractaria a glucocorticoides, inmunosupresores y rituximab, donde se podría valorar la posibilidad de un ciclo corto de anti-TNF fuera de indicación, o el caso de pacientes en los que predomina la afectación locomotora y que han fallado al tratamiento inmunosupresor estándar y a otras terapias biológicas como el belimumab, el rituximab o incluso abatacept.

6.4.3.2. *Abatacept*

El abatacept es una proteína de fusión que bloquea la unión de CD80/CD86 a CD28 y no produce depleción de células T.

Su uso en LES ha sido evaluado en ensayos clínicos en dos situaciones clínicas concretas: pacientes con manifestaciones activas extra-renales y pacientes con nefritis lúpica, ambos con resultados negativos.

6.4.3.3. *Tocilizumab*

El tocilizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el receptor de la IL-6. En el LES existe un aumento de los niveles plasmáticos de IL-6 (108-112), relacionado con la actividad de la enfermedad y los niveles de anticuerpos anti-dsDNA.

No existen ensayos clínicos aleatorizados doble ciego que demuestren la eficacia de tocilizumab en los pacientes con LES. Shirota et al realizaron un estudio con pacientes con LES en el que administraron infusiones quincenales de toilizumab a dosis de 2 mg/kg (n=4), 4 mg/kg (n=6) u 8 mg/kg (n=3) durante 12 semanas y con un seguimiento posterior de 8 semanas. Observaron que el tratamiento con tocilizumab disminuye la activación linfocitaria, altera la homeostasis de las células T y B y normaliza los subgrupos de células T y B anormales (113).

Existe un estudio abierto de escalada de dosis de tocilizumab (114) donde se evaluó la eficacia y seguridad en 16 pacientes con LES moderado activo. Se administraron 7 infusiones quincenales de 2 mg/kg (n=4), 4 mg/kg (n=6) y 8 mg/kg (n=6), durante 12 semanas y con un seguimiento posterior de 8 semanas. Se observó una mejoría en el SELENA-SLEDAI en 8 de 15 pacientes y de la artritis en concreto. Sin embargo no se observó mejoría de la proteinuria en los 5 pacientes con nefropatía. Los niveles de anticuerpos anti-dsDNA e IgG disminuyeron en los grupos tratados con 4 y 8 mg/kg. En todos los casos se produjo una disminución de los reactantes de fase aguda (VSG y PCR). En cuanto al perfil de seguridad, se observó una neutropenia relacionada con la dosis, que se recuperó tras suspensión del tratamiento. Así mismo

se observaron 11 infecciones no relacionadas con la neutropenia. No se observó un aumento de ALT/AST y colesterol como se ha comunicado en estudios con AR (115, 116).

6.4.3.4. Rituximab

6.4.3.4.1. Estructura y mecanismo de acción

Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico soluble, que actúa sobre el receptor de membrana CD20 (117) presente en las células B (en la mayor parte de las fases del desarrollo celular desde la célula pre-B hasta la célula B memoria), pero no en la célula plasmática. La unión del rituximab a su antígeno produce depleción de células B en sangre periférica (118) (durante un periodo de 6 o más meses), sin afectar a las células B maduras ni a las células pluripotenciales. Otros efectos que produce el fármaco son una mejora de la tolerancia de las células B y una disminución de la frecuencia de células B de memoria autorreactivas. Por otro lado, el tratamiento con rituximab también interfiere en la homeostasis de las células T. Están descritos un aumento de la actividad T reguladora y una disminución de la activación de células T helper (119).

La vía de actuación concreta del fármaco no está del todo aclarada pero entre los mecanismos de depleción se conoce la citotoxicidad dependiente de anticuerpos, la citotoxicidad dependiente de complemento y la apoptosis directa inducida por la unión del rituximab al CD20 (120). La sensibilidad de las células B al rituximab es variable en función del tejido y el subtipo celular. Por ejemplo, los datos de los estudios preclínicos realizados con rituximab revelan que a pesar de la depleción de células B en sangre periférica, la depleción en bazo no es completa y es menor aún en ganglios linfáticos y en cavidad peritoneal (121).

El grado y duración de la depleción varía en función de la dosis. Estudios de escalada de dosis (44) ha demostrado depleción hasta con la menor dosis (100mg). A parte de esta relación dosis dependiente, existen estudios a cerca de fenotipos concretos de receptor, como el Fcγ-IIIa (122), del que depende la capacidad de apoptosis mediada por complemento, que se cree que podría tener relación con los casos de ausencia de

depleción.

La vida media del rituximab es de 21 días. Aunque normalmente se observa una rápida depleción de los linfocitos circulantes, la depleción máxima puede ocurrir a los 3 meses. La repoblación en general ocurre a partir de los 6 meses, existiendo una gran variabilidad entre los pacientes en la respuesta clínica y en el tiempo hasta la recaída. Otros factores asociados a la reconstitución inmune son el predominio de células B naive o el retraso en la recuperación de las células de memoria (CD27+), que se han relacionado con remisiones clínicas prolongadas y que probablemente jueguen un papel regulador y protector (123). En cuanto a la formación de anticuerpos presentes en el LES, hay autores que han observado una disminución en los mismos tras el tratamiento con rituximab, aunque también está descrito tras la terapia con glucocorticoides en los brotes.

A día de hoy, el rituximab no tiene indicación aprobada en ficha técnica para el tratamiento del LES. Inicialmente fue desarrollado y aprobado para el tratamiento del linfoma no Hodgkin en el año 1997. Posteriormente comenzó a usarse, fuera de indicación oficial, en el tratamiento de varias enfermedades autoinmunes, incluido el LES. En el 2007 fue aprobado por la FDA y la EMEA para el tratamiento de las formas de artritis reumatoide refractarias a anti-TNF α . Sin embargo, en el campo del LES continua siendo utilizado de manera “compasiva” en los casos de enfermedad refractaria o intolerante a otros tratamientos. No obstante, existen numerosos estudios abiertos que avalan su uso en diversas situaciones clínicas, incluidas las formas graves y/o refractarias como nefritis lúpica, citopenias o afectación del sistema nervioso.

6.4.3.4.2. Estudios principales

La mayoría de los datos disponibles actualmente sobre su uso en el LES se obtienen de estudios abiertos y series de casos prospectivos, que reflejan en gran medida la práctica clínica actual y que se corresponden con pacientes con enfermedad moderada-grave refractaria a terapia estándar. Se han publicado más de 700 pacientes con este tratamiento, reportando unas tasas de remisión que oscilan entre 50 y 100% de los casos. La posología empleada varía mucho entre las distintas series, siendo la

pauta utilizada en linfoma (4 dosis semanales de $375\text{mg}/\text{m}^2$) algo más empleada que la habitual en AR (2 dosis de 1g separadas 15 días).

En general, los estudios prospectivos con rituximab en condiciones de práctica clínica demuestran una buena depleción de células B, una reducción de la actividad de la enfermedad en torno al 80% y una buena respuesta incluso en pacientes graves refractarios a tratamiento estándar (124) (tabla 7).

Tabla 7. Evidencia sobre el uso de rituximab en el LES. Modificada de (125)

Autor	Estudio	Pts	Protocolo	IS concomitante	Desenlace eficacia	Respuesta clínica (%)
Leandro 2002 ⁽¹²⁶⁾	EC abierto	6	0,5g*2	Cyc iv	BILAG	83
Looney 2004 ⁽⁴⁴⁾	EC abierto	17	100mg/m ² (n=6) 375mg/m ² (n=7) 375mg/m ² *4 (n=4)	Varios	SLAM SLEDAI	65
Leandro 2005 ⁽¹²⁷⁾	SCP	24	1g*2 en 18 de 24	Cyc iv	BILAG	96
Gottemberg 2005 ⁽¹²⁸⁾	SCR	13	375mg/m ² *4	AZA (2), HCQ (1), Cyc (1), MMF (1)	SLEDAI	70
Sfikakis 2005 ⁽¹¹⁹⁾	EC abierto	10	375mg/m ² *4	Prednisolona	Clínica	80
Marks 2005 ⁽¹²⁹⁾	SCP	7	750mg/m ² *2	Cyc iv	BILAG	100
Tokunaga 2005 ⁽¹³⁰⁾	SCP	5	375mg/m ² *2	-	SLEDAI Clínica	100
Vigna-Pérez 2006 ⁽¹³¹⁾		22	0,5-1g*2	IS basal	MEX- SLEDAI	90
Smith 2006 ⁽¹³²⁾		11	375mg/m ² *4	Cyc iv	BILAG	100
Cambridge 2006 ⁽¹³³⁾	SCP	16	0,5*2 (n=4) 1g*2 (n=12)	Cyc iv (n=14)	BILAG	100
García-Hernández 06 ⁽¹³⁴⁾	SCR	13	375mg/m ² *4	Cyc iv	Clínica	70
Ng 2006 ^{(135)a}	SCP	7	1g*2	Cyc	BILAG	50
Ng 2007 ⁽¹³⁶⁾	SCP	32	0,5g*2 (n=6) 1g*2 (n=26)	Cyc iv (n=24), varios	BILAG	38
Tokunaga 2007 ⁽¹³⁷⁾	SCP	10 ^b	375mg/m ² (n=1) 375mg/m ² *2(n=6) 0,5g*4 (n=2) 1g*4 (n=1)	Corticoides (n=10), AZA (n=1)	SLEDAI Clínica	100
Tanaka 2007 ⁽¹³⁸⁾	EC I/II	15	375mg/m ² *4(n=4) 1g*2 (n=10)	-	BILAG	64
Gunnarsson 2007 ⁽¹³⁹⁾	SCP	7 ^c	375mg/m ² *4	Cyc iv	SLEDAI	100 81
Jonsdottir 2008 ⁽¹⁴⁰⁾	SCP	16	375mg/m ² *4	Cyc iv + esteroides	SLEDAI BILAG	(SLEDAI) 94 (BILAG)
Tamimoto 2008 ⁽¹⁴¹⁾	SCP	9	100-250- 375mg/m ²	Corticoides (n=9), Cyc iv (n=1), CSA (n=3)	SLEDAI	89
Cambridge 2008 ⁽¹⁴²⁾	SCP	25	1g*2 (n=21) 0,5g*2 (n=4)	Cyc iv (n=23)	BILAG	¿?
Albert 2008 ⁽¹⁴³⁾	EC I/II	24	375mg/m ² *4	6-MP	SLEDAI	70
Sutter 2008 ⁽¹⁴⁴⁾	SCP	12	375mg/m ² *4	6-MP	SLEDAI	67
Lu 2009 ⁽¹⁴⁵⁾	SCR	50	1g*2	Cyc	BILAG	89
Reynolds 2009 ⁽¹⁴⁶⁾	SCR	11	0,75-1g*2 375mg/m ² *4 0,5g*2	Cyc iv MMF	BILAG	100
Lateef 2009 ⁽¹⁴⁷⁾	SCR	10	375mg/m ² *2	Cyc iv	BILAG	↓ Mediana 13,5
García-Carrasco 2009 ⁽¹⁴⁸⁾	SCP ^c	52	1g*2	6-MP	MEX- SLEDAI	50
Merrill 2010 ⁽¹⁴⁹⁾	EC II/III	257	1g*2 vs PLB (2:1)	IS basal (AZA,MMF,MTX)	BILAG	RTX = PLB
Catapano 2010 ⁽¹⁵⁰⁾	SCP	31	375mg/m ² *4 (n=16) 1g*2 (n=15)	Cyc iv	BILAG	87
Terrier 2010 ⁽¹⁵¹⁾	SCP	136	1g*2 (n=82) 375mg/m ² *4 (n=48) Otros (n=6)	Corticoides (n=125) MMF, AZA, MTX,CYC, LFN (n=71)	SELENA- SLEDAI	71

AZA: azatioprina; Cyc iv: ciclofosfamida intravenosa; EC: ensayo clínico; IS: inmunosupresión; MMF: micofenolato; 6-MP: 6 metil-prednisolona; MTX: metotrexato; Pts: pacientes; RTX: rituximab; SCP: serie de casos prospectiva; SCR: serie de casos retrospectiva; ^a ciclos repetidos; ^b solo pacientes con neurolupus; ^c solo

pacientes con nefritis lúpica

Existen sólo 2 ensayos clínicos controlados que han evaluado el uso de rituximab en pacientes con LES. Uno es el estudio EXPLORER(149)(Exploratory phase II/III SLE Evaluation of Rituximab), un ensayo clínico controlado, doble ciego, con placebo, en fase II/III en el que participaron 257 pacientes (55 centros) con LES extrarrenal, con actividad moderada-severa según los criterios BILAG A o B y en los que persistía la actividad de la enfermedad a pesar de haber sido tratados con inmunosupresores. Se excluyeron los pacientes con nefritis y aquellos con manifestaciones neurológicas graves. La terapia inmunosupresora en el momento basal se mantuvo durante todo el seguimiento (micofenolato o azatioprina o metotrexato) y a todos los pacientes se les añadió terapia corticoidea según mg/kg de peso, junto con aleatorización para rituximab o placebo. Ochenta y ocho pacientes recibieron placebo y 169 recibieron rituximab (2 dosis de 1000 mg en los días 1, 14, 168 y 182). Las variables de respuesta y seguridad fueron examinadas a las 52 semanas tras la infusión de rituximab y al final del seguimiento. A pesar de la correcta metodología del estudio, el estudio EXPLORER no fue capaz de probar superioridad de rituximab frente a placebo en su variable principal (alcanzar y mantener una respuesta clínica en la semana 52 usando BILAG de 8 órganos). Sin embargo sí se observó que determinados parámetros como los anticuerpos anti-dsDNA o los niveles de complemento, mejoraban más rápidamente en el subgrupo de pacientes que recibieron rituximab. También se hizo un subanálisis de los pacientes afroamericanos e hispanos (en total 1/3 de la muestra), en los que se observó mayor tasa de no respondedores dentro del grupo placebo. En cuanto a la depleción de CD19, se observó una rápida depleción tras 2 semanas de infusión salvo en un pequeño porcentaje de pacientes (9,5%) que no alcanzaron una depleción completa. Por último, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto al número de reacciones adversas, incluidas las infecciones severas. Sí se observaron mayores tasas de neutropenia en el subgrupo de pacientes con rituximab.

El otro estudio es el LUNAR (152) (Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study), un ensayo clínico en fase II, controlado, doble ciego, con placebo, donde se

reclutaron 144 pacientes (52 centros) con nefritis lúpica tipo III/IV en tratamiento inmunosupresor con micofenolato junto con corticoides, que se mantuvo durante el seguimiento. A diferencia del EXPLORER, no tenían por qué ser pacientes refractarios al tratamiento inmunosupresor. Se aleatorizaron para placebo y rituximab (72 pacientes en cada brazo), recibiendo las mismas dosis que en el estudio EXPLORER (1000 mg de rituximab en los días 1, 15, 168 y 182). Se evaluaron las respuestas parciales y completas a las 52 semanas y al final del seguimiento (78 semanas). Al igual que en el estudio EXPLORER, no se encontró superioridad estadísticamente significativa en el grupo tratado con rituximab frente al grupo placebo en cuanto a la tasa de respuestas totales ni completas. Sin embargo, en el grupo que recibió rituximab sí se observó mayor tasa de respuestas parciales a la semana 52 y cierta tendencia a la mejoría de algunos parámetros de laboratorio como la proteinuria, la función renal, los niveles de anti-dsDNA y complemento con respecto a los pacientes del grupo control. En cuanto a los eventos adversos, no se halló mayor número de infecciones ni de eventos adversos en el subgrupo tratado con rituximab frente a placebo, confirmando los datos de perfil favorable de seguridad observados también en el estudio EXPLORER. Por último, aunque no se hallaron diferencias estadísticamente significativas, sí se encontró una tendencia a ser más eficaz en el subgrupo de pacientes de raza negra tratados con rituximab.

Se han sugerido diversos problemas de diseño que podrían explicar los resultados desfavorables obtenidos en los ensayos EXPLORER y LUNAR, como son: una potencia estadística insuficiente para demostrar diferencias entre dos grupos de pacientes con medicación activa, uso de dosis variables de glucocorticoides e inmunosupresores, escaso tiempo de seguimiento (tan sólo 1 año posiblemente no permita evaluar los efectos terapéuticos diferidos) o criterios de mejoría poco sensibles (153).

6.4.3.4.3. Datos sobre su uso en situaciones específicas

Los datos encontrados en los 2 ensayos clínicos disciernen de las observaciones obtenidas en los estudios abiertos no controlados con pacientes refractarios a inmunosupresores, donde sí se ha demostrado eficacia de rituximab en nefritis lúpica

(151, 154) y en otras situaciones clínicas. De hecho, a pesar de los resultados negativos, los especialistas han seguido usando el rituximab en su práctica diaria, debido a la necesidad de tratar casos refractarios a las terapias convencionales y basándose en la percepción del beneficio obtenido en la experiencia clínica.

En el registro AIR (*FrenchAutoImmunity and Rituximab Registry*) (151), de los 42 pacientes con nefritis refractarias a tratamiento convencional que recibieron rituximab, el 48% alcanzó una respuesta completa y el 23% una respuesta parcial. En la revisión sistemática del grupo UK-BIOGEAS (154) de 164 pacientes con nefritis refractarias tratadas con rituximab, el 67% consiguió alguna respuesta renal, la proteinuria mejoró en el 90% de los pacientes y el filtrado glomerular mejoró en la mitad de la cohorte. En la revisión sistemática del 2010 (155) se indica que el 29% de los casos con nefritis tratados con rituximab conseguían una respuesta completa y el 37% una respuesta parcial.

En cuanto al uso de rituximab en el neurolupus, es escasa la experiencia y los datos se limitan a varias series de casos publicadas. En la serie de Tokunaga et al (137), donde se evaluó una serie de 22 pacientes con afectación neurológica debida al LES, tratados con rituximab, el 72% experimentó una rápida mejoría mientras que el 28% restante la enfermedad progresó o no experimentó cambios. Los tipos de afectación que más mejoraron fueron el estado confusional agudo y la disfunción cognitiva, seguidos de la psicosis y las convulsiones. En otra serie (156) de 12 pacientes con neurolupus tratados con rituximab se observó mejoría en 9 de ellos (4 con mielopatía, 4 con polineuropatía y 1 con polineuropatía y convulsiones).

En relación con la afectación articular, no existen ensayos clínicos que evalúen específicamente la eficacia del rituximab para el tratamiento de la artritis de los pacientes con LES. Una revisión de 100 pacientes (157) observó una buena respuesta a rituximab a nivel articular. En el registro AIR (151), de los 36 pacientes con artritis tratados con rituximab, el 52% consiguió una remisión completa y el 20% una remisión parcial tras tratamiento con rituximab. En la serie retrospectiva de García-Carrasco et al (158), el 76% de los 25 pacientes que tenían artritis intensa alcanzaron una remisión completa a los 6 meses de tratamiento.

Por último, a nivel hematológico, existen varias series de casos publicadas en pacientes con citopenias refractarias, en especial trombopenias, tratados con rituximab. En una serie retrospectiva (159) de 31 pacientes con LES y trombocitopenia refractaria a esteroides e inmunoglobulinas, el 56% de los pacientes normalizaron las cifras plaquetarias a los 6 meses de tratamiento con rituximab. Otras series con menor volumen de pacientes han obtenido resultados similares (134, 156-158). En la serie de Chen et al (160) de 10 pacientes, el 70% alcanzó una respuesta completa (>50.000 plaquetas) tras recibir 4 infusiones de 100 mg de rituximab. Incluso se ha descrito algún caso de buena respuesta rituximab tras fallo a esplenectomía (161).

6.4.3.4.4. Pauta de administración

Aún no ha sido establecida la dosis específica de rituximab en el LES. Mientras que en los ensayos clínicos generalmente se ha empleado la misma dosis que en la artritis reumatoide (infusión de 2 dosis de 1g separadas 14 días), numerosos estudios abiertos han usado la pauta indicada en linfomas (4 infusiones semanales de 375mg/m^2) (134, 162). Incluso se ha sugerido que una pauta reducida de 4 infusiones semanales de 100 mg podría ser eficaz (163).

Lo mismo ocurre con el número de ciclos a administrar, que no está aún estandarizado. El estudio observacional de Turner-Stokes et al (164) sugiere que la repetición sistemática de dosis de rituximab es más conveniente que el tratamiento a demanda. En los ensayos clínicos LUNAR y EXPLORER la dosis de RITUXIMAB de repitió a los 6 meses del tratamiento inicial. Sin embargo, a pesar de que la mayoría de los pacientes con LES requiere la infusión de ciclos repetidos, en práctica clínica se ha generalizado más su uso a demanda (en aquellos casos en los que se observe una respuesta inicial al primer ciclo).

En cuanto al uso del rituximab en monoterapia o en combinación con otros inmunosupresores, aunque hay datos acerca de los posibles riesgos de su uso combinado, en la práctica clínica se suele recomendar el mantenimiento de la terapia inmunosupresora previa en aquellos pacientes con LES en los que se ha constatado respuesta insuficiente a los mismos. Recientemente se ha relacionado la aparición de

leucoencefalopatía multifocal progresiva en pacientes con LES tratados con rituximab con el uso previo o concomitante de agentes alquilantes (165).

En la mayor parte de los estudios abiertos se han asociado dosis intravenosas de ciclofosfamida (2 dosis de 500-750 mg) a la pauta de rituximab de 375mg/m². Sin embargo, esta combinación no ha demostrado ninguna ventaja en el tratamiento de inducción de la nefritis lúpica (163). En estudio LUNAR (96) no se pueden extraer conclusiones acerca de este tema, pues todos los pacientes recibieron micofenolato concomitantemente. Cabe destacar que en un alto porcentaje de los estudios, al tratarse de situaciones clínicas graves y/o refractarias, se han empleado así mismo bolos de esteroides junto al rituximab, con o sin bolos de ciclofosfamida.

En el registro AIR (151), la combinación de cualquier inmunosupresor, incluyendo la ciclofosfamida, consiguió mayor descenso en los niveles de SELENA-SLEDAI después de 6 ± 3 meses de la infusión y un tiempo hasta la recidiva más prolongado. No obstante, cabe destacar que el grupo que estaba en tratamiento combinado partía de un índice de actividad basal más severo que el grupo en monoterapia. En la serie Vital et al (166), también se observaron mejores resultados en el grupo de pacientes que recibió un inmunosupresor concomitante frente a los pacientes en monoterapia, sin encontrar diferencias entre los distintos fármacos.

6.4.3.4.5. Factores relacionados con la respuesta al tratamiento

Los datos que disponemos de los estudios acerca de los beneficios del tratamiento con rituximab en los trastornos autoinmunes, muestran una gran variabilidad de respuesta clínica y en el tiempo de mantenimiento de la misma hasta la recidiva. Esta cuestión está aún es investigación y son necesarios más estudios para encontrar marcadores serológicos o celulares que determinen la respuesta al tratamiento, para que en un futuro se puedan seleccionar los mejores candidatos a recibir este tratamiento.

Tanto en los estudios con AR como en LES, se ha relacionado la respuesta clínica con el grado de depleción de células B en sangre periférica. Aparte del factor dosis dependiente, se cree que el grado de depleción pueda estar en parte influenciado por

factores genéticos. En el estudio EXPLORER se observó una mayor tasa de respondedores en el subgrupo de pacientes afroamericanos e hispanos. Como mencionábamos antes, ciertos polimorfismos del receptor como el FcR3a podrían estar implicados en esa variabilidad en el grado de depleción celular, tanto en sujetos sanos (167) como en pacientes con LES (122).

Otros factores que se cree que puedan estar implicados en el grado de respuesta terapéutica al rituximab son los niveles de BlyS (100, 142), la presencia o desarrollo de anticuerpos humanos anti-químicos (HACA) (143), la presencia de ciertos anticuerpos como los ENA, como factor independiente de recidiva posterior (136), o la reducción de anticuerpos anti-DNA y anti-nucleosoma, la depleción incompleta de las células B de memoria o el mantenimiento de las células plasmáticas de supervivencia prolongada (142).

6.4.3.4.6. Perfil de seguridad

Hasta ahora los datos disponibles en pacientes con LES parecen mostrar un perfil de seguridad del rituximab aceptable.

Los eventos adversos más frecuentemente observados en relación con el uso del rituximab son las reacciones infusionales y de hipersensibilidad, que suelen presentarse durante la administración del fármaco o tras las primeras horas. En pocos casos se ha descrito un tipo de reacción de hipersensibilidad retardada similar a la enfermedad del suero, cuyas manifestaciones podrían confundirse con las de la propia enfermedad autoinmune. El uso de premedicación con antihistamínicos, paracetamol y glucocorticoides antes de la infusión, disminuyen el riesgo de este tipo de eventos.

El registro AIR(151) reportó un 5% de reacciones infusionales severas, siendo éstas de tipo enfermedad del suero en 5 pacientes. Este tipo de reacción de hipersensibilidad retardada no se ha observado en los pacientes con AR pero sí se ha descrito en otras enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjögren (168).

En cuanto al riesgo de infecciones secundario a la inmunosupresión, parece que las infecciones graves son más frecuentes en los pacientes con antecedentes previos de infección, y en los que requieren dosis altas de esteroides y/o ciclofosfamida. Su uso debe evitarse especialmente en los pacientes con infección por el virus de la hepatitis B (VHB) sin

profilaxis y en aquellos con hipogammaglobulinemia. Tampoco se recomienda su uso durante el embarazo o la lactancia, a pesar de que no se ha demostrado teratogenicidad.

En el registro AIR se observó una tasa de infecciones severas de tan solo 6,6/100 pacientes-año (similar la observada para los fármacos anti-TNF en el tratamiento de la AR) (169, 170) y menor a la observada en el estudio EXPLORER (149) (tal vez por el hecho de que en el registro AIR existía un menor porcentaje de pacientes en tratamiento concomitante con otro inmunosupresor y una dosis media de corticosteroides menor en comparación con los del estudio EXPLORER). En el registro francés no se encontraron diferencias en cuanto a la dosis de corticosteroides y al tratamiento concomitante con ciclofosfamida entre el grupo de pacientes que mostraron infecciones severas y el grupo sin.

Otra cuestión sobre la que existen pocas evidencias, es la seguridad de los retratamientos con rituximab. El grupo de trabajo de Isenberg, observó que los ciclos repetidos de depleción de células B en los pacientes con LES refractario grave (7 pacientes que fueron retratados a demanda por recidiva de la enfermedad), resultaron ser seguros durante un periodo de al menos 6-12 meses (135). Sin embargo los efectos a largo plazo de la depleción de células B en los pacientes con LES siguen siendo desconocidos.

Parece ser que los efectos del rituximab en los pacientes con lupus son distintos que en los pacientes con linfoma. Se ha observado que el periodo de depleción de células B es menor en los pacientes con lupus. Mientras que en los casos de linfoma la repoblación de células B se observa alrededor del sexto al noveno mes, en los pacientes con LES puede observarse en fases más tardías, incluso en torno al tercer mes (126). Este fenómeno tal vez pueda explicarse debido a deficiencias congénitas o adquiridas del complemento (171, 172) y a una farmacocinética diferente del fármaco en los pacientes con LES.

6.4.4. Terapias biológicas en investigación

6.4.4.1. *Epratuzumab*

Se trata de un anticuerpo monoclonal recombinante, 90-95% humano (5-10% de secuencias murinas), dirigido contra el CD22, un antígeno que se expresa de forma restringida en los linfocitos B (en el citoplasma de las células pro-B y pre-B y en la superficie de las células B maduras) y que participa regulando su activación e interacción con las células T (173). Su acción es fundamentalmente inmunomoduladora, reduciendo un 35-44% del número de células B en sangre

periférica, sin afectar a las células T ni a las inmunoglobulinas.

Inicialmente se desarrolló para el tratamiento del linfoma no Hodgkin y otras neoplasias de células B. En el campo del LES, los 2 ensayos iniciales en fase II (SL0003 y SL0004) se suspendieron tempranamente por problemas de fabricación. Sin embargo los datos recogidos de ambos estudios sugerían una tendencia a la mejoría de la actividad de la enfermedad (medida por BILAG), sin empeoramiento de otros órganos o sistemas y con un menor requerimiento corticoideo, en los pacientes que recibieron epratuzumab en comparación con el grupo placebo (174). Un estudio posterior en el que se evaluó la variable combinada de mejoría de la puntuación BILAG junto con no empeoramiento del SLEDAI o de la evaluación global del médico, observó una ventaja del tratamiento con epratuzumab sobre placebo del 24,9% a las 12 semanas (175). Así mismo, los datos disponibles muestran un perfil de seguridad aceptable.

Por último, estudios han sugerido una mayor acción terapéutica del tratamiento combinado de epratuzumab y rituximab en pacientes con linfoma no Hodgkin refractario a poliquimioterapia, manteniendo un aceptable perfil de seguridad (176)(177).

6.4.4.2. Atacicept

Atacicept es una proteína quimérica de fusión del dominio extracelular del receptor TACI (*Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor*), unido al dominio IgG1 humano, que bloquea la estimulación de las células B dependiente de Blys y de APRIL.

En los estudios preclínicos realizados en modelos murinos y en humanos se observó una depleción subtotal de células B y una marcada reducción de los niveles de inmunoglobulinas (incluidos los autoanticuerpos) tras el tratamiento con atacicept. Como único efecto adverso sólo se objetivó elevación de transaminasas (178). Un estudio reciente en fase II/III con atacicept en combinación con micofenolato y glucocorticoides para el tratamiento de pacientes con nefritis lúpica clase III/IV, se suspendió al producirse una disminución no esperada de los niveles de IgG y un

aumento paralelo de las infecciones graves (179). Sin embargo, en estudios con pacientes con AR, también se ha observado una disminución de 30% de los niveles de IgG pero sin que conllevara un aumento paralelo de las infecciones, por lo que se cree que los efectos adversos observados en los pacientes con LES también podrían estar influenciados por el uso concomitante de micofenolato y corticoides (95). Actualmente hay en marcha un ensayo en fase II/III con pacientes sin afectación renal ni del sistema nervioso central.

6.4.4.3. Ocrelizumab

El ocrelizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado anti-CD20. Al igual que el rituximab es un agente citotóxico, que produce depleción de células B desde los estadios de células pre-B hasta las células B de memoria.

El estudio BELONG (*The Study to Evaluate Ocrelizumab in Patients With Nephritis Due to Systemic Lupus Erythematosus*), tenía como objetivo evaluar el efecto del ocrelizumab en los pacientes con nefritis lúpica proliferativa, con un diseño similar al del estudio LUNAR (se testaron dosis de ocrelizumab de 400 y 1000 mg, junto con tratamiento inmunosupresor de fondo consistente en micofenolato o ciclofosfamida ± azatioprina, junto con glucocorticoides). Sin embargo, en marzo del 2010 se suspendieron todos los ensayos que se estaban llevando a cabo con ocrelizumab, tanto en pacientes con LES como en AR (2400 pacientes entre más de 30 países), tras la alerta de seguridad reportada (infecciones severas y oportunistas, varias de las cuales fueron fatales). El análisis de los datos a la semana 32 del estudio BELONG mostraron una tendencia hacia una mejor respuesta en los brazos tratados con ocrelizumab (62% en los tratados con dosis de 400 mg y 64% con dosis de 1000 mg), frente al brazo placebo (51%, $P = 0.075$). En cuanto a la tasa de infecciones, el porcentaje de pacientes que experimentaron infecciones serias fue el doble en aquellos que recibieron micofenolato concomitante. Así mismo se observó una distribución geográfica específica para infecciones severas en los pacientes asiáticos (180).

6.4.4.4. *Ofatumumab (HuMax CD20)*

Se trata de un nuevo anticuerpo monoclonal anti-CD20 humanizado, con alto poder citotóxico sobre las células B. Hasta ahora se han realizado sólo estudios preclínicos y aún no se ha testado en pacientes con LES. Otros anticuerpos similares en estudio son el IMMU-106 (hA20) o el GA-101.

6.4.4.5. *Rontalizumab y Sifalimumab*

Son los 2 anticuerpos monoclonales dirigidos contra el IFN- α que se han experimentado hasta la fecha. El IFN- α es una proteína pleitrópica esencial en la patogenia del LES (181). Sus niveles se encuentran aumentados en plasma en los pacientes con LES y se cree que tiene relación con el perfil de expresión génica de las células mononucleares y la maduración de células dendríticas. En modelos murinos se ha demostrado también su implicación en la linfopenia dependiente de células B, la diferenciación de los centros germinales y la generación de células plasmáticas.

Sin embargo, datos recientemente reportados acerca de ensayos en fase I-II con ambos fármacos, no parecen mostrar diferencias frente a placebo (182).

6.4.4.6. *Eculizumab*

Es un anticuerpo que inhibe específicamente la activación terminal del complemento (anti-C5) (183). El papel del complemento en la patogénesis del LES es paradójico, ya por un lado es sabido que la activación de las fases iniciales del complemento participa en la eliminación de los inmunocomplejos y los cuerpos apoptóticos (y por tanto las deficiencias de algunos de estos componentes se relacionan con un mayor riesgo de desarrollar lupus), mientras que por otro lado se conoce que la activación terminal del complemento a través de los inmunocomplejos está en relación con la exacerbación de la enfermedad y el daño tisular en el lupus. Recientemente se están investigando moléculas que inhiben concretamente la activación terminal del complemento, como el eculizumab, y que podrían tener un futuro prometedor en el tratamiento de la nefritis lúpica.

6.4.4.7. Tratamientos anti-citokina

Aunque el papel de la IL-10 en la patogenia del LES no parece del todo aclarado, se cree que pueda estar implicada en la hiperactivación de las células B y la producción de anticuerpos. Se ha desarrollado un anticuerpo monoclonal murino neutralizante de la IL-10 humana (B-N10). Existe un pequeño estudio abierto con 6 pacientes en el que se ha observado una mejoría de la actividad clínica y un ahorro de corticoides (184). Sin embargo, posteriormente no se ha continuado su desarrollo clínico.

6.4.4.8. Terapias dirigidas contra señales reguladoras

En el LES sólo se ha estudiado específicamente la vía de coestimulación compuesta por CD40-CD40L (CD40L o CD154) y la de B7-CD28. Existen anticuerpos neutralizantes de CD40L que interfieren con las reacciones que se producen en los centros germinales y reducen la activación de los linfocitos B de la zona marginal (185). Sin embargo, los estudios que se han llevado a cabo en pacientes con LES se han suspendido prematuramente por complicaciones tromboembólicas.

La molécula ICOS (*inducible coestimulator*) es una molécula específica de las células T, que se induce en su superficie tras ser activadas. Está relacionada con el CD28, transmitiendo señales de coestimulación para las células T. ICOS y su ligando participan en la interacción entre células T y B y en la diferenciación de estas últimas. Se han observado resultados prometedores en modelos murinos (186) pero no existe aún experiencia en humanos.

7. CONCEPTO DE GRAVEDAD Y REFRACTARIEDAD

La mayoría de los pacientes con LES sufren brotes de actividad de intensidad leve o moderada. Sin embargo, aproximadamente un 50% de los pacientes termina desarrollando alguna manifestación grave, incluyendo nefritis, neurolupus, hipertensión pulmonar (HTP), neumopatía intersticial o algún evento cardiovascular. Se considera como grave aquel brote que pone en peligro la vida del paciente o la función vital de un órgano diana importante. Un brote grave puede suceder en cualquier momento de la enfermedad pero es más probable que suceda por primera

vez durante los 5 primeros años de evolución de la enfermedad. Su abordaje es variable pero requiere en la mayoría de los casos el uso de corticoides a altas dosis e inmunosupresores.

Existen diversos estudios que han evaluado la incidencia de eventos graves entre los distintos grupos étnicos, observando que los pacientes afro-americanos, afro-caribeños, hispanoamericano y asiáticos tienden a presentar formas más graves de la enfermedad que los caucásicos europeos o americanos. Sin embargo es difícil objetivar si esta diferencia se debe atribuir sólo a diferencias raciales o en qué medida estarían influyendo ciertos parámetros socio-sanitarios como por ejemplo la accesibilidad a los servicios sanitarios, que en este colectivo racial es en su mayoría deficiente.

Se define como lupus refractario aquel que no responde al tratamiento estándar, pudiendo ser refractaria cualquier manifestación clínica, aunque no implique por consecuencia gravedad de la enfermedad. Uno de los puntos a tener en cuenta a la hora de etiquetar de refractario es asegurar primero un buen cumplimiento terapéutico y una adecuada biodisponibilidad farmacológica. Además, gracias a la aparición de nuevas terapias, el concepto de refractariedad está cambiando a lo largo del tiempo, ya que en las últimas décadas se está observando una mejora en el pronóstico de los pacientes.

Actualmente se estima que menos de un 10% de los pacientes con LES sufre un brote grave refractario al tratamiento estándar. Estos pacientes suelen tener un brote general con fiebre y deterioro progresivo del estado general o cualquiera de las siguientes complicaciones:

- Nefritis con insuficiencia renal aguda rápidamente progresiva
- Complicaciones neurológicas como meningo-encefalitis, mielitis transversa, status epiléptico, multineuritis o lesiones focales múltiples.
- Trombopenia intensa < 10.000 , anemia hemolítica autoinmune, aplasia medular global, púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) o síndrome antifosfolípido catastrófico.

- Lesiones cutáneas generalizadas con vasculitis y áreas isquémicas.
- Insuficiencia respiratoria aguda/ subaguda grave por distintas manifestaciones pulmonares.
- Pancreatitis necrotizante, vasculitis abdominal, isquemia intestinal o fallo hepático.

Este tipo de casos refractarios a terapia estándar obligan a probar terapias más novedosas, menos conocidas y aún en investigación como sucede con nuestro estudio (ver posteriormente).

8. MORTALIDAD Y PRONÓSTICO

Gracias a los avances diagnósticos y terapéuticos la mortalidad a corto plazo del LES ha disminuido en las últimas décadas, sobre todo debido al diagnóstico de formas más leves de la enfermedad. En los años setenta la supervivencia a los 5 años era del 50% (187), en los noventa del 80% y los datos más recientes de la cohorte de Euro-Lupus muestran una supervivencia a los 10 años del 92% (188). Sin embargo la mortalidad a largo plazo sigue siendo elevada, concretamente unas 2,4 veces mayor que en la población general y en especial en pacientes jóvenes, por lo que el tratamiento del LES sigue siendo un reto. De hecho, en comparación con otras enfermedades reumáticas, el LES tiene una mortalidad relativamente alta, concretamente un 14,5% de la mortalidad global de las enfermedades reumáticas (189). Las tasas de mortalidad son mayores en las mujeres y en la raza negra, siendo las más altas en las mujeres negras de entre 45 y 64 años (189).

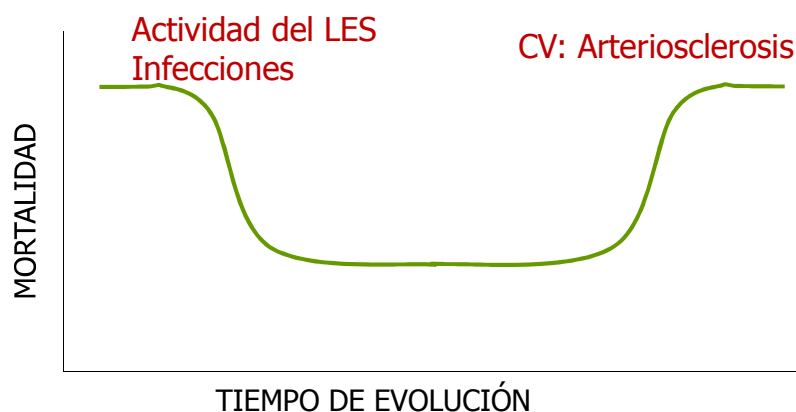
Paralelamente al aumento de la supervivencia se ha observado un cambio en el patrón de mortalidad. Clásicamente los pacientes con LES fallecían en un primer momento por infecciones o por la propia actividad de la enfermedad, especialmente por su patología renal, mientras que la mortalidad tardía era secundaria a los eventos cardiovasculares. Sin embargo, hoy en día la enfermedad arteriosclerótica constituye una de las principales causas de muerte prematura en estos pacientes mientras que se ha observado una disminución de las muertes debidas a la actividad de la enfermedad o a complicaciones infecciosas.

9. RIESGO CARDIOVASCULAR

La importancia de la enfermedad cardiovascular asociada a las IMID se ha puesto de manifiesto en las últimas décadas. Las enfermedades cardiovasculares suponen la primera causa de mortalidad en Europa (casi el 50%), en especial en las mujeres (55%) y afectan cada vez más a personas más jóvenes. Suponen así mismo la primera causa de invalidez y disminución de la calidad de vida relacionada con la salud. Dentro del LES, suponen un tercio de todos los fallecimientos (190).

Hace unas 3 décadas, Urowitz *et al.* (191), analizando las causas de muerte en los pacientes con LES, describieron un patrón bimodal de mortalidad. Por un lado, en fases iniciales de la enfermedad las causas de muerte se asociaban principalmente con la actividad de la enfermedad y las infecciones, mientras que a largo plazo se producía un repunte de la mortalidad relacionada sobre todo con los accidentes vasculares (figura 6).

Figura 6. Patrón bimodal de mortalidad en LES(191)



Estos autores estimaron una prevalencia de enfermedad coronaria isquémica de casi el 9%, una cifra que coincide con los hallazgos de otros trabajos (192)(193). En estos estudios destaca también la media de edad a la que ocurre el primer evento cardiovascular, que se sitúa por debajo de 50 años.

Hoy en día sin embargo, la aterosclerosis coronaria se considera una de las principales causas de morbilidad y mortalidad prematura en los pacientes con LES en

los países desarrollados (194). Se estima que el riesgo a los 10 años de sufrir un infarto agudo de miocardio o un ictus está aumentado entre 7,5 y 17 veces en los pacientes con LES en comparación con los individuos sanos (193, 195, 196). Analizando las causas de angina e infarto de miocardio de estos pacientes, raramente son debidos a trombosis (con arteriografía normal), vasculitis coronaria o émbolos arteriales, sino que la principal causa es la aterosclerosis acelerada. El aumento más notable del riesgo relativo (50 veces mayor) se produce en el subgrupo de mujeres jóvenes de entre 35-44 años (tabla 8) (193), que si no fuera por la enfermedad tendrían un bajo riesgo cardiovascular.

Tabla 8. Tasas de incidencia de IAM entre 1980-93(193)

Edad (años)	LES (N = 498)		Framingham (n = 2208)		Rate ratio	95% IC
	Tasa	95% IC	Tasa	95% IC		
15-24	6.33	0.2-35.3	0.00	0.0-11.8	∞	
25-34	3.66	0.8-10.7	0.00	0.0-1.2	∞	
35-44	8.39	4.2-15.0	0.16	0.0-0.9	52.43	21.6-98.5
45-54	4.82	1.0-14.1	1.95	0.9-3.6	2.47	0.8-6.0
55-64	8.38	1.7-24.5	1.99	0.6-4.6	4.21	1.7-7.9
65-74	7.94	1.0-28.7	0.00	0.0-17.1	∞	

IAM: infarto agudo de miocardio; IC: intervalo de confianza

9.1.Arteriosclerosis subclínica

No hay que olvidar que el riesgo cardiovascular puede estar presente sin haber aparecido ningún síntoma específico. Existe por tanto un porcentaje importante de pacientes con arteriosclerosis subclínica que podría subestimar la frecuencia real de enfermedad arteriosclerótica. En los últimos años ha surgido un interés creciente para la definición de marcadores subrogados de aterosclerosis precoz, predictores de eventos cardiovasculares futuros. Es el caso del espesor de la capa íntima-media carotídea medido mediante ecografía (197) o la rigidez de la pared arterial medida mediante la velocidad de la onda pulsada. De hecho, hay estudios que han

encontrado una correlación entre los niveles de PCR, la velocidad de la onda pulsada y el espesor de la capa íntima-media carotídea (198).

9.2. Fisiopatología

La explicación de porqué se produce esta arteriosclerosis acelerada no está del todo aclarada pero se ha postulado un origen multifactorial.

9.2.1. Factores de riesgo cardiovascular clásicos

Entre los enfermos con LES existe una elevada prevalencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos de Framingham como la diabetes mellitus (DM), la hipertensión arterial o la dislipemia (199). De hecho, es frecuente el síndrome metabólico en estos pacientes (200, 201). Sin embargo, estos condicionantes no parecen explicar por sí solos el exceso de riesgo tan significativo de enfermedad aterosclerótica prematura (202-204). Existen varios estudios que demuestran que aun ajustando por la edad, sexo, tipo y número de factores de riesgo cardiovascular, los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide o el lupus tienen un riesgo cardiovascular absoluto mucho más alto y que se va disparando a medida que aumenta el número de factores de riesgo clásicos (205). Es por ello que se cree que la propia enfermedad y concretamente la inflamación crónica, debería ser considerada como un factor de riesgo independiente de arteriosclerosis acelerada, como lo es por ejemplo la diabetes.

9.2.2. Factores ligados a la inflamación

La importancia de considerar la inflamación mantenida como un factor de riesgo cardiovascular independiente supone un avance importante en el manejo terapéutico de las conectivopatías y podría traducirse en un impacto relevante en la mortalidad poblacional, dada la elevada frecuencia de las IMID (5-6% de la población europea).

Este exceso de riesgo en relación con la propia patogénesis de la enfermedad podría estar ligado a factores de riesgo no tradicionales como el uso de algunos tratamientos (antiinflamatorios y esteroides), la proteína C reactiva, los inmunocomplejos, la oxidación del colesterol ligado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (206,

207), pero también a otros factores menos conocidos como la predisposición genética (tabla 9).

Tabla 9. Factores de riesgo cardiovascular en las IMID

Factores de riesgo tradicionales	Factores de riesgo no tradicionales
Hipertensión arterial	Corticoides
Dislipemia	PCR
Obesidad	LDL-Oxidadas
Insulín resistencia	IC circulantes
Diabetes	ADMA
Sedentarismo	Citokinas proinflamatorias
Disfunción renal	↓ Células progenitoras endoteliales
Tabaco	

ADMA: *Asymmetric dimethylarginine*; IC: inmunocomplejos; LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; PCR: proteína C reactiva

Se ha postulado que la inflamación descontrolada además de provocar daños directos locales en los tejidos de los órganos tiene efectos sistémicos que se expresan por alteraciones metabólicas y disfunción de células endoteliales y otros mecanismos que juegan un papel fundamental en la patogénesis de la aterosclerosis. El LES es una enfermedad inflamatoria mixta en la que participan de manera relevante tanto la autoinmunidad, mediada por la respuesta adaptativa (sobre todo por linfocitos B y T), como la autoinflamación, mediada principalmente por la respuesta innata (sobre todo por neutrófilos y por el sistema monocito-macrófago con una importante participación del TNF-alfa). En el sistema cardiovascular, los autoanticuerpos y los mediadores inflamatorios causan daño endotelial vascular y aceleran el desarrollo de arteriosclerosis (18). Recientemente algunos estudios se han focalizado en la proteína-C-reativa (PCR) como potencial biomarcador de enfermedad aterosclerótica (208). De hecho, existen modelos experimentales con ratones que demuestran que el grado de actividad inflamatoria se correlaciona con la rapidez en la instauración de la aterosclerosis (209).

Varios estudios han intentado abordar la relación entre la inflamación crónica, la actividad del LES y la enfermedad coronaria, observando una serie de factores dependientes de inflamación que se asocian con la aterosclerosis como son: el estrés

oxidativo, la nefritis crónica, los niveles bajos de complemento, los títulos de DNA nativo, la presencia de anticuerpos antifosfolípido o anticoagulante lúpico, así como los niveles de dimetilarginina asimétrica y de homocisteína (207, 210). Concretamente, la dislipoproteinemia observada debida a la actividad de la enfermedad, se caracteriza por un descenso del colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y un aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y triglicéridos (TG) (211, 212). Se ha descrito que los pacientes con LES tienen peores ratios de CT/HDL y LDL/HDL durante los brotes que durante las remisiones (213) y los pacientes con síndrome nefrótico tienen mayores niveles de CT y LDL y más bajos de HDL (214). Así mismo se ha detectado una correlación entre los niveles de SLEDAI y TG (214).

9.2.3. Factores en relación con las terapias

Aunque la inflamación sistémica persistente es un elemento esencial en el riesgocardiovascular de estos enfermos, existen otros factores involucrados como el uso de algunos fármacos, concretamente los corticoides y los anti-inflamatorios no esteroideos.

9.2.3.1. Terapia esteroidea

Desde hace pocos años se ha empezado a identificar a la inflamación crónica como pilar básico en la patogenia de la arterioesclerosis. De hecho, la inflamación sistémica mantenida presente en muchas enfermedades reumatológicas como el LES, se ha empezado a considerar como un factor de riesgo independiente de desarrollo de arterioesclerosis acelerada. Partiendo de esta base, dado la potente acción antiinflamatoria de los glucocorticoides, en teoría podrían tener una acción moduladora beneficiosa sobre el riesgo de arterioesclerosis y de enfermedades cardiovasculares, al disminuir la inflamación sistémica (215). De hecho, se ha observado que los glucocorticoides *in vitro* inhiben el acúmulo de macrófagos en la pared arterial dañada, conllevando probablemente una atenuación de la respuesta inflamatoria local (216).

Sin embargo, son bien conocidos los efectos adversos de los corticoides a nivel

cardiovascular y endocrino, existiendo numerosos datos que avalan que su uso crónico promueve paralelamente la aterosclerosis, ya sea causándola directamente o indirectamente al exacerbar los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

Los efectos cardiovasculares de los glucocorticoides están mediados por receptores glucocorticoides y mineralcorticoides, actuando tanto a nivel sistémico como a nivel local. Su uso promueve el desarrollo de hipertensión arterial, hiperglucemia, dislipemia y obesidad (217, 218).

Entre los mecanismos de desarrollo de hipertensión arterial se encuentran un aumento de la resistencia vascular periférica y los efectos mineralcorticoides de retención de sodio y edemas (219). Hay datos de estudios que ponen de manifiesto que bajas dosis diarias de prednisona (por debajo de 10mg/día o equivalentes) ejercen un mínimo efecto sobre la presión arterial y por tanto no se considerarían como causa relevante de hipertensión (220).

Por otro lado, los glucocorticoides se consideran hormonas diabetógenas ya que aumentan la producción de glucosa a nivel hepático e inducen resistencia a la insulina, mediante la inhibición de la captación y el metabolismo de la glucosa en los tejidos (221). Se cree que también pueden tener un efecto directo sobre las células β pancreáticas, inhibiendo la secreción de insulina (222). Las cifras de hiperglucemia se pueden observar tras sólo unas semanas después de iniciar la terapia corticoidea. El riesgo de diabetes corticoidea aumenta en relación con la dosis (en pacientes previamente no DM: odds ratio de 1,8 para el riesgo de iniciar antidiabéticos con dosis \leq 10mg/día de prednisona y odds ratio de 5,8 para dosis de entre 20-30mg/ día de prednisona). El riesgo también aumenta si se suman otros factores de riesgo de adquisición de DM como la historia familiar, la obesidad o la diabetes gestacional previa.

Está descrita una dislipemia ligada por sí sola a la terapia crónica con glucocorticoides, que se caracteriza por un aumento en los niveles plasmáticos de CT, colesterol ligado a las LDL, colesterol ligado a las VLDL y TG(223). Estos cambios están mediados por el aumento de los niveles plasmáticos de insulina, una alteración en el catabolismo lipídico y un aumento de la producción lipídica a nivel

hepático. El aumento de los niveles de lipoproteínas de baja densidad que se observa es uno de los factores de riesgo de desarrollo de aterosclerosis más importantes, seguido de la hipertensión inducida por glucocorticoides.

A nivel local, interaccionan directamente con las células cardíacas y de la pared vascular, promoviendo la vasoconstricción, los efectos pro-fibróticos y la disfunción endotelial. Por el contrario, también poseen efectos anti-proliferativos, antiinflamatorios y anti-migratorios celulares que inhiben la formación de la lesión vascular (224).

Concretamente en el campo del LES y otras enfermedades inflamatorias reumatológicas, aún no existen suficientes evidencias acerca de los efectos cardiovasculares adversos de los glucocorticoides en este tipo de pacientes. Probablemente sea porque no se han llevado a cabo ensayos clínicos controlados con suficiente tiempo de exposición y potencia estadística para poder detectar diferencias relevantes en cuanto a su morbi-mortalidad asociada. Algunos estudios han observado que altas dosis acumuladas de glucocorticoides en pacientes con LES se asocian con enfermedad cardiovascular acelerada (225, 226). Otros autores han observado que ajustando por los factores de riesgo cardiovascular tradicionales (hipertensión, diabetes y dislipemia), no se elimina en la mayoría de los casos el efecto deletéreo de la terapia corticoidea, sugiriendo por tanto que debería ser considerada como un factor de riesgo independiente de desarrollo de eventos cardiovasculares (227-229). Por último, existen estudios que relacionan el espesor de la capa de ateroma a nivel carotídeo y la dosis acumulada de corticoides en pacientes con AR (230).

Por el contrario, otros estudios no han demostrado asociación entre los glucocorticoides y el aumento de riesgo cardiovascular, tanto en LES (203, 231) como en AR (232, 233) o polimialgia reumática (234).

En resumen, aunque los glucocorticoides hoy en día se consideran un factor de riesgo independiente de desarrollo de enfermedad cardiovascular en general y concretamente en los pacientes con LES, es difícil separar sus efectos deletéreos de los provocados por la propia actividad inflamatoria de la enfermedad, que por sí

misma actúa como un factor pro-aterogénico. Es más, en los pacientes con mal control de la enfermedad que presentan brotes de actividad o afectación severa de órganos, reciben altas dosis de glucocorticoides, por lo que el riesgo cardiovascular se vería multiplicado por ambas vías (altas dosis de corticoides acumuladas y elevada actividad inflamatoria).

Es decir, es complicado cuantificar cuánto exceso de riesgo se debe atribuir exclusivamente a los efectos adversos de la terapia esteroidea crónica y cuánto exceso es debido a los brotes de actividad inflamatoria de la enfermedad. Este factor de confusión es una de las principales limitaciones de los estudios observacionales destinados a este fin.

Otro punto a tener en cuenta es la dosis y el tiempo de administración de la terapia esteroidea. Los estudios disponibles ponen de manifiesto que la dislipemia y el aumento de riesgo cardiovascular se observan principalmente con el tratamiento a largo plazo y con dosis elevadas de glucocorticoides (227). Por el contrario, algunos estudios como el de Da Silva *et al.*(218) no han observado un exceso de riesgo de desarrollo de eventos cardiovasculares en los pacientes con AR tratados con bajas dosis de glucocorticoides ($\leq 10\text{mg/día}$ de prednisona o equivalentes). Aunque estas afirmaciones se podrían explicar en parte por la duración de los estudios (puede que insuficiente para dar tiempo al desarrollo de complicaciones cardiovasculares), se cree que en los pacientes que reciben bajas dosis de glucocorticoides, la propia enfermedad supondría un factor de riesgo cardiovascular de mayor peso que la terapia esteroidea.

En el estudio de Hafstrom *et al.*(235) donde se comparaba dosis baja de glucocorticoides (7,5 mg/día de prednisona) frente a placebo en 67 pacientes con AR durante 5 años, no se observó asociación entre la terapia esteroidea y la disfunción endotelial medida por el espesor de la capa íntima-media y la dilatación arterial mediada por flujo de la arteria braquial.

Incluso hay autores que creen que el uso de bajas dosis de glucocorticoides, especialmente cuando se inicia el tratamiento, podría disminuir la incidencia de arterioesclerosis. Existen algunos estudios que sugieren que una menor exposición a

glucocorticoides se asociaría con desarrollo de placa carotídea (203).

9.2.3.2. AINE

Los antiinflamatorios no esteroideos se usan con frecuencia en el tratamiento sintomático de muchas enfermedades reumáticas, que provocan principalmente dolores osteomusculares. Sin embargo en el LES, su uso está menos extendido que en otro tipo de patologías como la AR, partiendo de la base de que no todos los pacientes con LES tienen manifestaciones articulares y en el caso de tenerlas, se caracterizan por una artritis no erosiva y en la mayoría de los casos menos invalidante.

Desde hace años, son muchas las evidencias disponibles que ponen de manifiesto el aumento del riesgo cardiovascular asociado al consumo de AINE, tanto los AINE tradicionales (no selectivos) como los inhibidores selectivos de la COX-2 (coxibs), excluyendo sin embargo la aspirina, que a día de hoy se usa ampliamente como profilaxis cardiovascular primaria y secundaria.

Los coxibs se desarrollaron con el fin de reducir los efectos adversos gastrointestinales de los AINE. Sin embargo, al igual que los AINE tradicionales, se ha comprobado que los coxibs también provocan efectos cardiovasculares adversos, lo que ha limitado su uso. Un metanálisis reciente (236) mostró que todos los AINE (salvo la aspirina) comparados con placebo conllevaban, en distinto grado, un riesgo cardiovascular y cerebrovascular. De entre ellos, rofecoxib se asoció con el mayor riesgo de infarto de miocardio (razón de incidencias 2.12, IC 95%: 0,26-3,56), seguido de lumiracoxib (2,0, 95% IC: 0,71-6,21). Ibuprofeno se asoció con el riesgo más alto de ictus (3,36, 95% IC: 1,0-11,6), seguido de diclofenaco (2,86, 95% IC: 1,09-8,36). Etoricoxib y diclofenaco se asociaron con mayor riesgo de muerte por evento cardiovascular (4,07, 95% IC: 1,23-15,7 y 3,98, 95% IC 1,48-12,7 respectivamente). Naproxeno resultó ser el menos dañino.

9.2.3.3. COXIBS

Aunque son muchos los estudios realizados con los coxibs con otros fines distintos a

los de evaluar el riesgo cardiovascular (la mayoría destinados a comparar sus efectos gastrointestinales frente a otros AINE), en muchos de estos estudios se detectó una disparidad de eventos cardiovasculares en los grupos tratados con coxibs frente a los controles (236-250). Todo esto ha generado una alarma sobre su perfil de seguridad cardiovascular y ha conllevado a que se reconsidere la relación beneficio/ riesgo antes de su uso. De hecho, son ya 2 los coxibs que se han retirado del mercado por este motivo, el rofecoxib en el 2004 y el valdecoxib en el 2005.

La hipertensión causada por los inhibidores selectivos de la COX-2 también juega un papel importante en la toxicidad cardiovascular de estos fármacos. En el ensayo clínico CLASS (*Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study*), el tratamiento con coxibs se asoció con una tasa de hipertensión y edemas periféricos del 2% (251). Así mismo en un estudio prospectivo de control de presión arterial en domicilio, se observó una hipertensión inducida por el tratamiento con inhibidores de la COX-2 (252). El estudio MEDAL (*Multinational Etoricoxib and Diclofenaco Arthritis Long-Term*) (253) no encontró diferencias entre las tasas de eventos cardiovasculares trombóticos en el grupo tratado con etoricoxib y aquellos con diclofenaco. Por el contrario, sí se observó un mayor grado de hipertensión asociada a etoricoxib, lo que conllevó en varios casos a la interrupción del tratamiento.

Se han propuesto varios mecanismos que podrían explicar el exceso de riesgo cardiovascular atribuido a los coxibs. El desequilibrio entre prostaciclina (inhibidas por el bloqueo que provocan los coxibs sobre la COX-2) y el tromboxano A2 (no afectado puesto que su generación es mediada por la COX-1), podría explicar el riesgo cardiovascular ligado a los coxibs. Mientras las prostaciclina inhiben la agregación plaquetaria y producen vasodilatación, el tromboxano A2 induce agregación plaquetaria, vasoconstricción y proliferación vascular, por lo que ese exceso de tromboxano podría traducirse en un mayor riesgo trombótico.

En cuanto al tiempo que transcurre entre el inicio de la exposición al fármaco y el inicio del desarrollo de los eventos cardiovasculares, difiere entre los distintos estudios. Algunos estudios como el APPROVe (242) reportaron un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares asociados a rofecoxib tras 18 meses del inicio del

tratamiento y otros tras 3 años del inicio de la terapia (254). Sin embargo en el estudio de Gislason et al. (255) se habla de un corto periodo de exposición tras el cual se empieza a observar ese aumento de riesgo.

9.2.3.4. AINE no selectivos

A parte del estudio de Trelle et al (192) mencionado anteriormente, otros estudios similares han demostrado que no sólo los coxibs sino también los AINE no selectivos, se relacionan con un mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares. Un estudio danés (255) demostró un exceso de mortalidad dosis-dependiente asociada al uso de AINE no selectivos en pacientes con IAM previo (ibuprofeno: Hazard ratio 1,50, 95% IC: 1,36-1,67 y diclofenaco: hazard ratio 2,40, 95% IC: 2,09-2,80, $p < 0,001$). Kearney et al. (256) observó que el tratamiento con ibuprofeno (a dosis de 800 mg, 3 dosis diarias) y diclofenaco (75 mg, 2 dosis diarias), se asociaban ambos con un riesgo incrementado de desarrollo de eventos cardiovasculares y que sin embargo, el uso de naproxeno (500 mg, 2 dosis diarias) se asociaba con una menor riesgo.

Sin embargo, el flurbiprofeno, por su potente acción antiplaquetaria, se indicó como prevención secundaria después de la reperfusión coronaria tras un IAM, especialmente en aquellos pacientes en los que existía alguna contraindicación para la toma de aspirina (257). Sin embargo a día de hoy se considera que no aporta un beneficio suficiente y no se usa más en práctica clínica.

9.2.3.5. Antipalúdicos

Los antimaláricos pueden producir descenso en los niveles de glucosa plasmáticos. Existen estudios que avalan que la hidroxicloroquina debido su efecto hipoglucemiante, podría relacionarse con una disminución del riesgo de desarrollo de DM en pacientes con AR(258). Por otro lado, los antipalúdicos se han relacionado con una mejoría del perfil lipídico en los pacientes con LES(71, 259, 260). Están descritos algunos casos aislados de alteraciones en la conducción cardíaca y cardiomiopatía (261).

En general se aconseja su uso en todos los pacientes con LES, en sustitución de los corticoides siempre que sea posible.

9.2.3.6. Inmunosupresores

Las evidencias disponibles a cerca del tratamiento con metotrexato en pacientes con AR demuestran un efecto beneficioso sobre la vasculatura y una reducción de la mortalidad cardiovascular en estos pacientes. Así, en más de 1.200 pacientes con AR seguidos durante más de 18 años, el tratamiento con MTX se asoció a una reducción de la mortalidad global del 60% y una reducción de la mortalidad cardiovascular del 70%(262). En un estudio de cohortes de más de 3.800 pacientes con AR, se observó una reducción significativa de la mortalidad por IAM en los pacientes de la cohorte con mayor tasa de utilización de metotrexato (37%)(263).

Se ha visto en algún estudio que la combinación de ciclofosfamida más metotrexato y 5-fluorouracilo para el tratamiento del cáncer de mama en mujeres pre- y postmenopáusicas, podría tener efectos beneficiosos en el perfil lipídico(264).

El uso de ciclosporina A en algunos estudio se ha relacionado con efectos protectores contra la aterosclerosis prematura en pacientes con LES (265).

Hay estudios sobre población trasplantada renal en los que parece observarse una relación entre el tratamiento con micofenolato mofetilo y una reducción de los eventos cardiovasculares(266).

9.2.3.7. Terapias Biológicas

La aparición de los fármacos biológicos está cambiando drásticamente el pronóstico de las enfermedades reumáticas, al actuar de manera mucho más selectiva sobre dianas terapéuticas concretas. Paralelamente a los estudios de eficacia y seguridad, está surgiendo un interés creciente en el estudio de sus efectos a nivel cardiovascular. La mayoría de estos trabajos se han publicado en pacientes con AR, en especial en fases establecidas de la enfermedad. Son pocos los estudios acerca de su repercusión en el perfil cardiovascular de los pacientes con LES.

9.2.3.7.1. *Anti-TNF α*

A día de hoy se conoce que la citokina TNF α participa en la disfunción y la inestabilidad endotelial, conduce a la progresión de la ateromatosis, promoviendo la ruptura de la placa de ateroma (267) y favorece los eventos trombóticos.

La administración exógena de TNF α y su sobreexpresión endógena en modelos experimentales se han relacionado con el remodelado ventricular izquierdo, la disfunción contráctil aguda y la apoptosis de cardiomiocitos, promoviendo el fracaso cardíaco. De hecho, los niveles de TNF α se encuentran elevados en los casos de fracaso cardíaco y se asocian con el grado de severidad (268). Sus niveles también se encuentran elevados en casos de infarto de miocardio. Sin embargo se desconoce aún si estos niveles elevados juegan un papel beneficioso o nocivo. Parece que en fases agudas de la isquemia coronaria los niveles fisiológicos de TNF α puedan tener un efecto beneficioso. En modelos experimentales con ratones se ha observado que el TNF α protege los cardiomiocitos del daño producido por la hipoxia(269). Parece que este efecto cardio-protector es dosis y tiempo dependiente. Por ejemplo, se ha observado que bajas dosis de TNF α exógeno (0,5 ng/ml *in vitro*) administradas antes de la isquemia-reperfusión aumentan la supervivencia celular (mecanismo de pre-acondicionamiento), mientras que dosis más altas (10-20 ng/ml *in vitro*) resultan citotóxicas y aumentan la extensión del infarto (270, 271).

Por tanto, estos datos contradictorios sugieren que el mecanismo de acción del TNF α en el sistema cardiovascular es complejo y que, dependiendo de factores como su concentración o el tipo de receptor activado (TNFR1 o TNFR2), puede llevar a cabo un papel beneficioso o nocivo sobre el miocardio. Un desequilibrio entre los efectos cardio-protectores y los nocivos son los que conllevarían al fracaso cardíaco.

Varias publicaciones recientes han sugerido que los anti-TNF α tienen efectos significativos sobre la dislipemia, la disfunción endotelial, la ateromatosis carotídea y la rigidez de la pared arterial, mejorando la mortalidad cardiovascular en los pacientes con AR (272-276). La mayoría de los datos que se han publicado son en relación con infliximab y principalmente en pacientes con AR ya establecida, más que en fases precoces de la enfermedad. De hecho, son varios los estudios que han

observado mejorías en los parámetros de función endotelial (rigidez de la pared arterial y espesor de la capa íntima-media carotídea entre otros) tras el tratamiento con estas terapias (276-279). Sin embargo, hay estudios en los que se observa un perfil lipídico más aterogénico después de un año de tratamiento con infliximab (280, 281), lo que abre el debate sobre si los efectos beneficios observados por otros autores puedan ser solo transitorios.

Hay registros que han comparado los agentes anti-TNF α con los FAME en AR, observando que los primeros no parecen asociarse con un empeoramiento del fracaso cardíaco preexistente (282) ni con un aumento de la mortalidad en general (283). En el registro de terapias biológicas de la Sociedad Británica de Reumatología (*The British Society for Rheumatology Biologics Register*, BSRBR) se encontró una disminución de la incidencia de infarto de miocardio entre el grupo de pacientes con AR que había respondido a la terapia con anti-TNF α en los primeros 6 meses, frente al grupo que recibió tratamiento con FAME (283).

Por tanto, se podría decir que los anti-TNF α en conjunto, al controlar la actividad inflamatoria de los pacientes con AR, resultan ser más beneficiosos que dañinos en cuanto al riesgo de fracaso cardíaco, especialmente en aquellos pacientes que no reciben concomitantemente esteroides ni coxibs (que implicarían un riesgo por sí mismos) (282).

Sin embargo, a pesar de los datos favorables obtenidos de los estudios preliminares que sugerían que los anti-TNF α podían mejorar la disfunción ventricular, los ensayos clínicos realizados en pacientes con insuficiencia cardíaca sin enfermedad inflamatoria, no han mostrado ningún beneficio en la función cardíaca con los anti-TNF α , sugiriendo incluso que podrían ser nocivos. 2 ensayos clínicos combinados (284) evaluaron el tratamiento con etanercept en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva. Ambos fueron finalizados prematuramente por falta de respuesta, no encontrando beneficio alguno con el tratamiento con etanercept. En otro estudio similar (285) en el que se evaluaron pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva tratados con infliximab, se asoció el infliximab con empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, que además se mantuvo hasta 5 meses tras la interrupción del

tratamiento. Una de las hipótesis que se ha sugerido para poder explicar los resultados no esperados de estos ensayos clínicos es que la dosis del anti-TNF α usada tal vez suprima los niveles fisiológicos de TNF α que resultan cardioprotectores (por el sistema de acondicionamiento previo). A raíz de ello, se ha contraindicado el tratamiento con anti-TNF α en los pacientes con AR con insuficiencia cardíaca severa.

En cuanto al uso de Anti-TNF en las vasculitis, parece que de todos ellos el infliximab podría suponer la mejor alternativa terapéutica a los inmunosupresores tradicionales para el tratamiento de la Enfermedad de Behçet(286), aunque la combinación de infliximab con azatioprina y/o ciclofosfamida parece mostrar superioridad frente a la monoterapia. Así mismo, en una revisión reciente se indica que los anti-TNF α , en especial el infliximab, pueden ser útiles en el tratamiento de la arteritis de Takayasu refractaria a terapia inmunosupresora estándar, actuando además como agentes ahorradores de corticoides (287, 288). Por el contrario no se han demostrado claros beneficios al añadir infliximab o etanercept al tratamiento con corticoesteroides en los casos de Arteritis de Células Gigantes (289, 290).

9.2.3.7.2. Anti-IL6

La IL-6 es otra citokina proinflamatoria con propiedades pleiotrópicas que aparte de estar implicada en la patogénesis de varias enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, también se ha relacionado con el desarrollo de arterioesclerosis. Los datos disponibles de los ensayos clínicos con tocilizumab muestran un aceptable perfil de seguridad cardiovascular. Existen estudios que han demostrado una reducción de la rigidez de la pared arterial, al igual que los agentes anti-TNF α , y una mejoría de la disfunción endotelial en los pacientes con AR tras el tratamiento con tocilizumab (291, 292). Schiff *et al.* (293) analizaron el perfil de seguridad cardiovascular a largo plazo (2,4 años) de varios ensayos con pacientes con AR en tratamiento con tocilizumab, demostrando que las tasas de infarto de miocardio eran similares a las reportadas en estudios epidemiológicos de pacientes con AR.

Por otro lado, el conocimiento de que los niveles elevados de IL-6 se asocian con mayor riesgo de enfermedades coronarias (294, 295), ha sugerido que los agentes

anti-IL6 podrían ser beneficiosos en la prevención de este tipo de patología (296) o incluso en el tratamiento del infarto de miocardio en fases agudas.

Por el contrario, sí se han observado elevaciones moderadas de las cifras de colesterol total, LDL, HDL y TG en relación con el uso de toilizumab, y que son reversibles tras el cese de la medicación (297). Se desconoce aún si estas alteraciones lipídicas tendrían alguna implicación sobre el perfil cardiovascular de estos pacientes a largo plazo.

Por último, algunos datos obtenidos de pequeñas series de casos han observado discretas mejorías en parámetros clínicos y de laboratorio de pacientes con vasculitis de grande vaso (arteritis de células gigantes y arteritis de Takayasu) tratadas con tocilizumab (298, 299).

9.2.3.7.3. *Anti-IL1*

La IL-1 es una citokina que se ha reconocido como importante mediador de arterioesclerosis (300-304). Se conoce su implicación en la desestabilización de la placa de ateroma (305) y su participación en el remodelado post-infarto (306) y en la patogénesis de la miocarditis (307, 308). Partiendo de estos conocimientos es lógico pensar en las terapias que bloquean el receptor de IL-1 como futuras opciones terapéuticas de las enfermedades cardiovasculares.

La IL-1 se puede neutralizar mediante el inhibidor fisiológico humano IL-1Ra. En población obesa los niveles de IL-1Ra están elevados, promoviendo la resistencia a la insulina (309). En pacientes con IAM los niveles de IL-1Ra también se encuentran elevados y se asocian con el grado de extensión de la zona infartada (310, 311). Se desconoce aún si esta elevación expresa sólo un marcador de daño o podría tratarse de un agente cardioprotector. Estudios con ratones deficientes para el gen del IL-1Ra demostraron asociación con inflamación arterial y desenlace fatal (303). Sin embargo el papel de la IL-1 en el sistema cardiovascular es complejo y el uso o no de IL-1 Ra en pacientes con IAM es aún controvertido. Se cree que el resultado del equilibrio entre IL-1 y IL-1Ra es lo que en última instancia va a conllevar efectos beneficiosos o dañinos sobre el desarrollo de la arterioesclerosis (312).

Anakinra es una forma recombinante del inhibidor fisiológico humano IL-1Ra, que se une al receptor tipo I de la IL-1 inhibiéndola de forma competitiva. Un ensayo clínico reciente demostró efectos beneficios sobre el remodelado ventricular de 10 pacientes con infarto agudo de miocardio tras el tratamiento con anakinra (313). Se está llevando a cabo un segundo estudio similar en el que se evaluará la función ventricular a través de RMN.

9.2.3.7.4. *Anti-CD20*

De entre los efectos adversos más comunes de la administración de rituximab se encuentran las reacciones infusionales agudas, probablemente relacionadas con la liberación plasmática de citokinas secundaria a la rápida lisis de células B circulantes, lo que justificaría la lenta infusión del fármaco. Se cree que esta rápida liberación de citokinas podría producir vasoconstricción, activación plaquetaria e incluso ruptura de placas de ateroma previamente silentes, pudiendo resultar en infarto de miocardio. De hecho existen algunos casos reportados de infarto de miocardio, fibrilación ventricular y shock cardiogénico durante la infusión de rituximab, la mayoría en pacientes oncológicos con linfomas (314-316), uno de los cuales acabó falleciendo (314) y en un paciente con púrpura trombótica trombocitopénica (317).

Sin embargo, en cohortes mayores no se han reportado efectos adversos cardiovasculares a largo plazo en relación con el tratamiento con rituximab. Siano *et al.* (318) realizaron un estudio de dosificación de rituximab, monitorizando los niveles de troponinas y péptido natriurético cerebral, junto con datos electro y ecocardiográficos en pacientes que recibían infusiones con rituximab incluso a alta velocidad (habiendo ya recibido una dosis previa en los 3 meses anteriores). No encontraron datos relevantes de toxicidad cardíaca en relación con las infusiones. Tan sólo observaron una discreta elevación de los niveles de péptido natriurético cerebral tras las primeras 24 horas de la infusión.

A día de hoy el papel del rituximab a nivel cardiovascular en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas es aún desconocido y hay pocas evidencias y controvertidas. Existen algunos datos positivos acerca de los efectos del rituximab

sobre la función endotelial de los pacientes con AR (319, 320). Por el contrario algunos autores parecen no encontrar diferencias significativas en cuanto a rigidez de la pared arterial (321).

Lo mismo ocurre en el campo del LES, donde a pesar de que en la actualidad el rituximab es uno de los fármacos más empleados en el tratamiento de las formas refractarias a terapias estándar, existen pocos datos acerca de su efecto a nivel vascular en estos pacientes. Un pequeño estudio provisional retrospectivo (322) sugiere que rituximab podría tener un efecto positivo en el perfil lipídico de los pacientes con LES refractario, tras un año de seguimiento. Sin embargo son necesarios más estudios, con mayor número de pacientes y un mayor tiempo de evolución, que confirmen estos hallazgos.

Sí que existen por el contrario ensayos clínicos controlados que apoyan al rituximab como terapia alternativa a la ciclofosfamida en los casos graves de vasculitis ANCA + (323, 324). Su uso está autorizado para el tratamiento de la poliangéitis con granulomatosis y la poliangeitis microscópica. Se ha demostrado su no inferioridad con respecto a la ciclofosfamida a la hora de inducir remisión en pacientes naïve y su efectividad en los casos refractarios o recidivantes (325). Sin embargo se necesitan estudios a largo plazo para confirmar si tiene un efecto sostenido en el tiempo, por lo que por ahora su uso se recomienda en caso de fallo a terapia estándar (326).

9.2.3.8. Hipolipemiantes

Las estatinas inhiben la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima-A (HMG-CoA) reductasa, una enzima que cataliza la conversión de HMG-CoA a mevalonato durante la síntesis del colesterol. En las últimas décadas las estatinas se han convertido en una de las estrategias más efectivas en la reducción de las tasas de morbi-mortalidad cardiovascular, tanto en prevención primaria como secundaria. Es más, a día de hoy hay evidencias que sugieren que las estatinas poseen funciones pleiotrópicas, inmunomoduladoras, antiinflamatorias y antitrombóticas, independientes de su acción hipolipemiante (327, 328). Es por ello que su uso en pacientes con LES podría producir un beneficio tanto cardiovascular como inmunomodulador. Se ha postulado que su efecto podría estar mediado en parte por

la activación de las células T reguladoras (329).

Hay evidencias que sugieren que las estatinas podrían usarse como terapia complementaria en las enfermedades autoinmunes. De entre los hallazgos que se han observado en los distintos estudios en relación con su uso se encuentra una mejoría de los índices de actividad en los pacientes con AR y espondilitis anquilosante, una reducción de los factores protrombóticos en pacientes con síndrome antifosfolípido, una mejoría de la proteinuria y de los eventos cardiovasculares en los pacientes con LES y vasculitis y cambios vasculares en pacientes con esclerosis sistémica (330).

Sin embargo el uso de estatinas en los pacientes con LES no está estandarizado. Esto es debido en parte a la no disponibilidad de estudios intervencionistas en este subgrupo poblacional y por la falta aún de evidencias sólidas sobre los efectos de su tratamiento en los marcadores de ateromatosis subclínica, como es espesor de la capa íntima-media (331). De hecho, en un estudio de seguridad y eficacia del tratamiento con atorvastatina para la prevención de la progresión de la ateromatosis subclínica en una población de LES en edad pediátrica, no se observó un efecto significativo en la progresión de la ateromatosis a los 3 años del seguimiento (332).

Es rara la asociación entre estatinas y enfermedades autoinmunes y aunque se consideran un tratamiento seguro, hay datos recientes que sugieren que un tratamiento prolongado con las mismas podría desencadenar algún tipo de reacción autoinmune. Existe algún caso reportado de rabdomiolisis severa, hepatitis autoinmune y positivización de ANA y ac. Anti-DNA, en pacientes previamente sanos en tratamiento crónico con estatinas (333). También se ha desconoce el mecanismo exacto por el que se produce la reacción autoinmune inducida por la estatina. Se cree que al ser agentes proapoptóticos, liberan antígenos nucleares en la circulación que podrían inducir la formación de autoanticuerpos. La mayoría de los casos reportados respondieron a terapias inmunosupresoras.

JUSTIFICACIÓN

III. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que los avances científicos en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades autoinmunes han supuesto una mejora en la mortalidad a corto y medio plazo de los pacientes con LES, el pronóstico a largo plazo sigue siendo incierto en muchos de los casos, especialmente en aquellos con formas graves de la enfermedad. Los pacientes con LES grave sufren complicaciones más graves y están expuestos a terapias inmunosupresoras más agresivas (334), lo cual hace que su manejo suponga un reto.

Actualmente nos encontramos en una nueva era terapéutica donde se están investigando continuamente numerosas terapias biológicas dirigidas contra dianas inmunológicas más concretas. Hasta ahora la única terapia biológica aprobada para su uso en el LES es belimumab y a pesar de que se han empezado a observar resultados prometedores con otros fármacos, se necesitan más estudios acerca de su uso y seguridad en condiciones de práctica clínica.

Concretamente en el LES, las terapias contra las células B han suscitado un interés creciente en las últimas décadas. Rituximab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra el CD20, que induce depleción de células B (124). A pesar de que los únicos 2 ensayos clínicos con rituximab en LES fallaron en encontrar diferencias significativas en las variables de desenlace (149, 152), existen numerosos estudios abiertos (44, 119, 126-128, 131, 133, 135, 136, 142, 143, 145, 149-151, 157, 335) que avalan su uso en varias situaciones clínicas, incluidas las formas graves y/o refractarias como nefritis lúpica, citopenias o afectación del sistema nervioso. Esto ha hecho que actualmente rituximab sea uno de los fármacos biológicos más usados en la práctica clínica para el lupus grave, reportándose buenos resultados en los casos de enfermedad refractaria o intolerante a otras terapias. Sin embargo, no se ha publicado hasta la fecha ninguna experiencia suficientemente amplia que permita conocer algunos detalles acerca de su frecuencia y modo de uso entre los reumatólogos españoles.

Por otro lado, se conoce que los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas tienen un riesgo aumentado de arteriosclerosis precoz debido a la suma de factores

ligados a la propia inflamación y a los tratamientos concomitantes con AINE y corticoides entre otros (18, 47, 195). Sin embargo, existen pocos estudios disponibles acerca del efecto de las terapias biológicas sobre el perfil cardiovascular en el lupus. Por este motivo quisimos aprovechar nuestro estudio para realizar un subanálisis del perfil lipídico de los pacientes con tratados con rituximab. Partiendo de la base de que estos pacientes tenían una enfermedad inflamatoria activa a pesar de haber recibido varias terapias inmunosupresoras y altas dosis acumuladas de corticoides, asumíamos por tanto que tendrían un mayor riesgo de arterioesclerosis acelerada atribuido a la suma de los factores previamente mencionados. Por tanto, dado que rituximab ha demostrado ser efectivo y capaz de controlar la enfermedad, sería lógico pensar que debería producirse una mejoría en el perfil lipídico secundaria a la mejora paralela de la actividad inflamatoria de la enfermedad y la disminución del requerimiento de fármacos relacionados con la arteriosclerosis como son los esteroides y los AINE. Sin embargo, se desconoce si el tratamiento con rituximab podría tener un efecto cardiovascular implícito directo o indirecto mejorando algunos factores de riesgo cardiovascular clásicos o si por el contrario las mejoras vendrían ligadas principalmente al mejor control de la actividad inflamatoria y a la menor necesidad de fármacos proaterógenicos. Hasta ahora existe solo un pequeño estudio preliminar retrospectivo (322), que ha sugerido que rituximab pueda tener un efecto positivo en el perfil lipídico de los pacientes con LES tras un año de tratamiento.

HIPÓTESIS

IV. HIPÓTESIS

En la presente tesis doctoral nos marcamos 2 hipótesis:

H₁: Rituximab es una opción terapéutica efectiva en la práctica clínica para el tratamiento de los pacientes con LES refractario a la terapia estándar, con un perfil de seguridad aceptablemente bueno.

H₂: Rituximab puede mejorar el perfil lipídico de estos pacientes de una forma directa o indirecta.

OBJETIVOS

V. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad y seguridad de uno o varios cursos de tratamiento con rituximab en el LES refractario a terapias estándar en la práctica clínica habitual española.

2. OBJETIVOS OPERATIVOS

- Describir las características clínicas y analíticas basales de los pacientes con LES tratados con rituximab.
- Evaluar la efectividad de rituximab tras el primer curso de tratamiento y al final del seguimiento (después de uno o varios cursos de tratamiento).
- Investigar los factores relacionados con la efectividad del tratamiento.
- Evaluar la seguridad de rituximab en condiciones de práctica clínica en este grupo de pacientes con LES.
- Investigar los factores relacionados con la seguridad del rituximab en nuestra muestra.
- Realizar un análisis de los efectos de rituximab sobre el perfil lipídico de los pacientes con LES a través de los siguientes pasos:
 - Elegir una muestra representativa de nuestra cohorte para hacer un adecuado subanálisis.
 - Describir el perfil lipídico y los cambios producidos en él después del tratamiento con rituximab.
 - Investigar los factores relacionados con los cambios en el perfil lipídico.

PACIENTES Y MÉTODOS

VI. PACIENTES Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

LESIMAB fue un estudio diseñado dentro del Grupo de Trabajo de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas de la Sociedad Española de Reumatología (EASSER) para estudiar la eficacia y la seguridad de rituximab en una cohorte multicéntrica nacional de pacientes con LES grave activo que habían fallado al tratamiento estándar. Se trató de un estudio multicéntrico, retrospectivo, longitudinal, observacional en el que participaron 19 centros nacionales de Reumatología con experiencia en el campo del LES.

A partir de esa cohorte, elaboramos posteriormente un subestudio de riesgo cardiovascular, con el fin de evaluar el efecto de rituximab sobre el perfil lipídico de estos pacientes.

2. PACIENTES

2.1. Población diana

Pacientes de ambos sexos con LES

2.2. Población de estudio

Pacientes con LES en seguimiento en alguno de los 19 centros de Reumatología que participaron en el estudio durante el periodo comprendido entre el 18 de noviembre del 2003 y el 5 de febrero del 2009, y que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión que se detallan más abajo.

2.3. Muestra de estudio

Entre la población de estudio se reclutó una muestra de 131 pacientes.

Posteriormente, partiendo de esta muestra, para el estudio lipídico se seleccionó una submuestra de 79 pacientes (ver más abajo).

2.4. Criterios de inclusión

2.4.1. Criterios de inclusión de la muestra general (n=131)

- Diagnosticado de LES según los criterios del *American College of*

Rheumatology (ACR) (9).

- Enfermedad activa y grave.
- Enfermedad refractaria a terapia estándar (inmunosupresores y/o corticoides).
- Haber recibido tratamiento con rituximab (al menos 1 infusión).
- Haber completado al menos 2 evaluaciones relacionadas con la infusión de rituximab.
- Tener un seguimiento mínimo de 10 semanas tras la primera infusión de rituximab (muestra por protocolo). Los pacientes con seguimiento inferior también fueron admitidos para el análisis de seguridad (muestra por intención de tratar).

2.4.2. Criterios de inclusión de la submuestra lipídica (n=79)

- Tener recogidos los datos necesarios acerca del perfil lipídico básico (CT, C-HDL y TG), en el momento basal, a las 24 semanas de la primera infusión de rituximab y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).
- Tener recogidos los datos necesarios acerca de la toma de antimaláricos (hidroxicloroquina a dosis de 200-400 mg/día) e hipolipemiantes (inhibidores de HMG-CoA junto con dosis), en el momento basal, a las 24 semanas de la primera infusión y al final del seguimiento.
- Tener recogidos los datos necesarios acerca de la toma de corticoides (mg/día de prednisona o equivalentes), en el momento basal, a las 24 semanas de la primera infusión y al final del seguimiento.

2.5. Criterios de exclusión

Con el fin de maximizar el tamaño muestral y tratándose de un estudio retrospectivo, no se pusieron restricciones a la hora de seleccionar los pacientes participantes y se incluyeron todos aquellos disponibles que reunieran los criterios arriba mencionados.

3. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

En primer lugar los principales investigadores del estudio se reunieron para hacer una puesta en común y una elaboración del protocolo final. Se diseñaron varias hojas Excel con las variables que posteriormente se emplearía para la informatización de los datos recogidos. Se elaboró un manual del investigador que, junto con la base de

datos, se enviaron a los 19 centros participantes.

Los datos fueron extraídos de las Historias Clínicas hospitalarias. Tanto la recogida de datos como su introducción en las hojas Excel fueron realizadas por reumatólogos con experiencia. Una vez finalizado el periodo de recogida, se enviaron las bases de datos a nuestro centro (Hospital Universitario Carlos Haya, Málaga). Se realizó una primera monitorización para analizar la consistencia de los datos y se solicitaron una serie de aclaraciones para su resolución por parte de los investigadores. Para finalizar, se llevó a cabo el análisis estadístico de los datos recogidos.

Rituximab (Mabthera®, Roche) y la pre-medicación se administraron de acuerdo con el protocolo de cada centro hospitalario (113 pacientes recibieron 6-metilprednisolona más antihistamínicos o paracetamol y el resto recibieron sólo antihistamínicos con o sin paracetamol). Cada curso de rituximab se definió como la administración de 2 dosis de 1.000 mg de rituximab separadas 14 días o 4 dosis semanales de $375\text{mg}/\text{m}^2$ de rituximab. En los pocos casos que recibieron otro tipo de posología distinta, se les catalogó en la base de datos como una variable más (“otra posología”).

Como indicación terapéutica primaria se eligió la afectación orgánica que llevó al clínico a considerar el tratamiento con rituximab. En caso de brote generalizado con diferentes órganos afectados se eligió la afectación orgánica más grave o refractaria, que predominara sobre las demás. Las indicaciones terapéuticas secundarias consistieron en las otras manifestaciones de la enfermedad coexistentes con la primaria y que también podían beneficiarse del tratamiento.

El retratamiento de los pacientes con sucesivos cursos de rituximab en general se clasificó del siguiente modo: (1) protocolo sistemático cuando se administraron semestralmente con independencia de la situación clínica; y (2) protocolo a demanda cuando se administraron los nuevos cursos según las necesidades clínicas del paciente.

El análisis de efectividad se realizó en 2 momentos a lo largo del tiempo: a las 24 semanas (6 ± 3 meses) del primer curso de rituximab y al final del seguimiento (tras

1 o varios cursos de rituximab). También se realizaron esos 2 cortes en el análisis de la submuestra lipídica.

4. VARIABLES DL ESTUDIO Y DEFINICIONES OPERATIVAS

4.1. Variables de desenlace de la muestra general

4.1.1. Variable de desenlace principal en el análisis de efectividad

Tasa de respuesta parcial y completa a los 6 ± 3 meses después del primer curso de rituximab.

4.1.2. Variables de desenlace secundarias

- Tasa de respuesta al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos)
- Tasa de brote al final del seguimiento (brote leve-moderado y brote severo)
- Tiempo transcurrido hasta alcanzar la mejor respuesta clínica al final del seguimiento (respuesta completa o respuesta parcial)
- Tiempo transcurrido hasta la recidiva después de alcanzar la remisión
- Cambios en las variables basales clínicas y de laboratorio relacionadas con la actividad del lupus
- Tasa de eventos adversos (leves, moderados, graves y fatales)
- Tasa de infecciones (leves, moderadas, graves y fatales)
- Tasa de reacciones infusionales (leve-moderadas y graves)
- Tasa de fallecimientos
- Tasa de hospitalizaciones
- Tiempo transcurrido hasta sufrir infección grave

4.2. Variables de desenlace de la submuestra lipídica

- Variaciones en el perfil lipídico (CT, HDL, LDL, TG, CT/HDL e índice aterogénico) a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Variaciones en el perfil lipídico (CT, HDL, LDL, TG, CT/HDL e índice aterogénico) al final del seguimiento, tras 1 o más cursos de rituximab.
- Variaciones en la dosis de corticoides a las 24 semanas y al final del seguimiento.

4.3. Listado de variables y definiciones operativas

4.3.1. Variables en relación con las características basales de la muestra

- Número de identificación del centro
- Número de identificación del paciente
- Número de historia clínica
- Nombre y apellidos del paciente
- Iniciales del paciente
- Sexo: hombre o mujer
- Raza:
 - Caucásica
 - Hispana
 - Otras
- Fecha de nacimiento del paciente
- Edad (años)
- Fecha de diagnóstico del LES
- Duración de la enfermedad contada en años transcurridos desde el diagnóstico del LES
- Fecha de incidencia en la cohorte (fecha de la primera infusión de rituximab)
- Fecha de protocolo: fecha a la que se actualiza el protocolo (última revisión revisada).
- Peso (kg)
- Talla (m)
- Índice de masa corporal (IMC), calculado según la siguiente fórmula: $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{altura}^2 \text{ (metros}^2\text{)}$
- Hiperlipemia/ dislipemia, definida según las recomendaciones *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP-III) (336).
- HTA, definida según la Guía Europea para la Hipertensión 2007(337), que considera como hipertensión grado 1 los valores por encima o igual a 140/90 mm Hg (2 determinaciones).

- Diabetes mellitus, definida según los criterios diagnósticos de la ADA (*American Diabetes Association*) (338):
 - Glucosa basal en ayunas ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/L)
 - Hemoglobina A1C $\geq 6,5$ % (48 mmol/mol)
 - Test de sobrecarga de glucosa ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L)
 - Concentración de glucosa en plasma al azar o casual de ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L) en presencia de síntomas.
- Obesidad, definida como un IMC >30
- Tabaquismo, definido como una de las siguientes posibilidades (considerado independientemente de la cantidad de cigarrillos diarios):
 - Nunca fumador
 - Fumador actual
 - Exfumador
- Historia de angor, diagnosticado clínicamente
- Historia de infarto agudo de miocardio (IAM), diagnosticado clínicamente y enzimáticamente/ ECG
- Accidente isquémico cerebral (ACV), diagnosticado clínicamente y por métodos de imagen.
- Insuficiencia cardíaca congestiva, diagnosticada clínicamente y por métodos de imagen.
- Índice de Charlson ajustado por edad (*age-adjusted Charlson comorbidity index*, CCI)(339).
- Número de infecciones graves sufridas previamente. Definiendo como infección grave los siguientes supuestos: si ésta conllevó el fallecimiento, resultó ser potencialmente mortal, requirió hospitalización, causó discapacidad/incapacidad prolongada y persistente, indujo una anomalía congénita o necesitó tratamiento antibiótico intravenoso. (Incluyendo infecciones difíciles de erradicar como hepatitis B o C, infecciones fúngicas invasivas, osteomielitis por staphylococcus...).
- Número de criterios acumulados satisfechos hasta la fecha de la Clasificación ACR revisada del 1997 del LES (9):

- Rash malar
 - Lupus discoide
 - Fotosensibilidad
 - Aftas orales o nasofaríngeas
 - Neurológico, definido como las siguientes posibilidades: convulsiones/ psicosis
 - Serositis, definida como las siguientes posibilidades: pericarditis/ pleuritis/ peritonitis
 - Nefritis, definiendo las biopsias renales según
 - Artritis no erosiva antes de la incidencia
 - Hematológico antes de la incidencia, definido como las siguientes posibilidades: leucopenia, linfopenia, trombopenia o anemia hemolítica.
 - Inmunológico antes de la incidencia, definido como las siguientes posibilidades: ANA, anti-DNAn, anti-Sm, anticuerpos antifosfolípidos.
- Síndrome antifosfolípido: según la revisión de Sydney/actualización de los criterios de Sapporo (340). Se cuantificó:
 - Número de abortos consecutivos antes de la semana 10 (antes de la incidencia)
 - Número de pérdidas fetales por encima de la semana 10 (antes de la incidencia)
 - Número de partos prematuros por debajo de la semana 34 (antes de la incidencia)
 - Número de trombosis arteriales (antes de la incidencia)
 - Número de trombosis venosas (antes de la incidencia)
 - Número de trombosis de pequeño vaso (antes de la incidencia)
 - Presencia o no de anticuerpos anti-fosfolípido (antes de la incidencia)
 - Presencia o no de anticuerpos anti-coagulante lúpico (antes de la incidencia)
 - Cuantificación de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM (antes de la

incidencia), definido como el valor más alto (UGPL o UMPL) hasta la fecha de protocolo

— Cuantificación de anticuerpos anti- β 2GPI IgG e IgM (antes de la incidencia), definido como el valor más alto hasta la fecha de protocolo

- Número de órganos/sistemas gravemente afectados previamente. Definiendo la afectación grave según los siguientes criterios (341): ≥ 2 órganos han sido afectados o se han requerido tratamientos agresivos por complicaciones (más 50mg de prednisona diaria o bolos de esteroides o bolos de ciclofosfamida).

Los órganos o sistemas considerados fueron los siguientes:

- Músculo-esquelético
- Piel y mucosas
- Riñón. Las biopsias renales se catalogaron según la clasificación del 2003 de la Sociedad Internacional de Nefrología/Patología renal(342).
- Afectación hematológica
- Sistema nervioso
- Cardíaco
- Pulmonar
- Otros, incluyendo: cuadro constitucional, afectación hepática, vascular u oftálmica.

- Grado de afectación orgánica previa debido a la enfermedad, definido según los siguientes criterios (341):

- Afectación leve: sin afectación (actual o pasada) de órganos vitales como riñones, sistema nervioso central, corazón (no pericarditis) o pulmones (no pleuritis).
- Afectación moderada: afectación solo de uno de estos órganos
- Afectación grave: ≥ 2 órganos han sido afectados o se ha requerido tratamientos agresivos por complicaciones (más 50mg de prednisona diaria o bolos de esteroides o bolos de ciclofosfamida)

- Número de tratamientos recibidos previamente contra la enfermedad. Especificando posteriormente el número de pacientes que fueron tratados con

los siguientes:

- Cloroquina/ hidroxiclороquina
- Corticosteroides (especificando dosis de prednisona + alta recibida)
- Bolos de corticosteroides
- Azatioprina
- Altas dosis de metilprednisolona iv
- Bolos de ciclofosfamida
- Micofenolato mofetilo
- Metotrexato
- Anticoagulantes
- Inmunoglobulinas iv
- Anti-TNF α
- Ciclosporina A
- Leflunomida
- Tacrolimus
- Danazol
- Epratuzumab
- Mercaptopurina
- Esplenectomía

4.3.2. Variables en relación con el esquema de administración del rituximab

- Curso infusional definido como las distintas opciones:
 - 2 dosis de 1.000 mg de rituximab separadas 14 días.
 - 4 dosis semanales de 375mg/m² de rituximab.
 - 2 dosis de 500 mg separadas por 14 días.
 - Otra posología.
- Número de ciclos de rituximab administrados desde la fecha de incidencia.
- Criterio usado para la repetición de los ciclos de rituximab:
 - Pauta fija (protocolo sistemático): infusión de un curso cada 6 meses, con independencia de la situación clínica del paciente.
 - Protocolo a demanda: infusión de cursos repetidos según las

necesidades clínicas.

- Indicación terapéutica primaria, definida como la afectación orgánica más grave o refractaria, que predominara sobre las demás:
 - Brote general
 - Nefritis
 - Trombopenia
 - Anemia hemolítica
 - Artritis
 - Cutáneo
 - Neurológico
 - Pulmonar
 - Otra
- Indicaciones terapéuticas secundarias, definidas como las otras manifestaciones de la enfermedad coexistentes con la primaria y que también podían beneficiarse del tratamiento.
- Tratamiento adyuvante a la infusión.
- Tratamiento concomitante a la infusión (evaluado tanto en el momento basal como a las 24 semanas y al final del seguimiento):
 - Corticoides: dosis diaria de equivalente de prednisona administrada con fines distintos a reducir las reacciones infusionales
 - Bolos de prednisolona: bolos de esteroides que se administran con fines distintos a reducir las reacciones infusionales
 - Bolos de ciclofosfamida
 - Ciclofosfamida mensual
 - Bolos de prednisonola y ciclofosfamida
 - Azatioprina (mg/día)
 - Metotrexato (mg/semanal)
 - Micofenolato mofetilo
 - Otros agentes inmunosupresores
 - Hidroxicloroquina (mg/día)

4.3.3. Variables clínicas en relación con la respuesta al tratamiento (determinación a nivel basal, a las 24 semanas y al final del seguimiento)

- Grado de funcionalidad de los pacientes: valorado según la versión española del *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) (343)
- Índice de daño orgánico irreversible acumulado: cuantificado según el SLICC/ACR *Damage Index*(SDI) (16)
- Índice de actividad del LES: medido según el *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assesment-SLE disease activity index* (SELENA-SLEDAI) (344)
- Brote de la enfermedad: definido según el índice revisado SFI, que excluía el componente de evaluación global del médico. Este componente se excluyó dado que este apartado no se encontraba disponible en muchas de las historias clínicas.
- Recidiva de la enfermedad: cuantificado según el índice modificado de SFI (345), que define:
 - Brote leve-moderado: si cumple ≥ 1 de los siguientes criterios SFI leve-moderados:
 - ✓ Cambio en SLEDAI >3 puntos pero no supera el total de 12.
 - ✓ Aparición o empeoramiento de alguno de los siguientes signos: discoide, vasculitis cutánea, fotosensibilidad, lupus profundo, lupus vesicular, úlceras nasofaríngeas, pleuritis, pericarditis, artritis, fiebre (por LES).
 - ✓ Aumento de prednisona hasta $\leq 0,5$ mg/(kg/día)
 - ✓ Adición de AINE o hidroxicloroquina por actividad del LES
 - ✓ Aumento de la valoración global del médico ≥ 1 , permaneciendo $\leq 2,5$
 - Brote grave: si cumple ≥ 1 de los siguientes criterios SFI graves:
 - ✓ Cambio en la puntuación SLEDAI >12 puntos
 - ✓ Aparición o empeoramiento de alguno de los siguientes signos: neurolupus, vasculitis, nefritis, miositis, plaquetas $< 60.000/\text{mm}^3$, hemoglobina $< 7\%$ o disminución de la Hb $> 3\%$. Se requiere

doblar la prednisona o dosis de prednisona $>0,5$ mg/kg/día u hospitalización.

- ✓ Prednisona $>0,5$ mg/kg/día)
- ✓ Nueva prescripción de inmunosupresor para el LES (ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato), hospitalización.
- Fecha de desenlace (objetivo) SLEDAI; definida como la fecha en la que se alcanzó por primera vez el objetivo de respuesta.
- Respuesta completa (remisión en SLEDAI), definida por un índice SELENA-SLEDAI ≤ 2 y una puntuación de 0 en el índice de SFI, de forma mantenida durante >3 meses.
- Respuesta parcial, definida como la reducción de al menos 4 puntos en el score SELENA-SLEDAI sin nuevos síntomas o empeoramiento de los ya existentes, medidos por el SELENA-SLEDAI SFI.
- Fallo del tratamiento del SLEDAI, definida como una reducción de 1-3 puntos en el score SELENA-SLEDAI durante el seguimiento.
- Tiempo hasta la mejor respuesta: tiempo transcurrido en meses desde la administración de la primera infusión de rituximab hasta alcanzar por primera vez el menor valor del índice SELENA-SLEDAI.
- Depleción exitosa de células B, definida como un número de CD19 absolutos por debajo de $0,005 \times 10^9$ céls/l
- Delta-SLEDAI a las 24 semanas, definido como la diferencia entre los valores de SLEDAI basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-SLEDAI al final del seguimiento, definido como la diferencia entre los valores de SLEDAI basal y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).
- Delta-proteinuria a las 24 semanas, definida como la diferencia entre las cifras de proteinuria basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-proteinuria al final del seguimiento, definida como la diferencia entre las cifras de proteinuria basal y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).

- Fecha de desenlace (objetivo) renal, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo renal.
- Insuficiencia renal crónica terminal, definida como un valor de creatinina $\geq 6\text{mg/dl}$ o inicio de diálisis.
- Fecha en la que se alcanza la insuficiencia renal crónica terminal.
- Fecha de desenlace (objetivo) plaquetario, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo plaquetario.
 - Remisión completa de la trombopenia: recuento de plaquetas ≥ 100.000 dentro de 2 primeros meses del ciclo de rituximab y durante más de 6 meses.
 - Remisión sostenida de la trombopenia: recuento de plaquetas entre 50.000-100.000 después del primer mes del ciclo de rituximab.
 - Respuesta mínima de la trombopenia: incremento de plaquetas entre 30.000-49.999 después del primer mes del ciclo de rituximab y cese de hemorragia si la había.
 - Respuesta parcial de la trombopenia: recuento de plaquetas ≥ 50.000 después del primer mes del ciclo de rituximab y cese de la hemorragia si la había.
 - Fallo del tratamiento plaquetario: incremento de plaquetas < 30.000
- Fecha del desenlace (objetivo) hemolítico, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo hemolítico.
- Fecha del desenlace (objetivo) neurológico, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo neurológico.
 - Respuesta completa de la complicación neurológica: normalización del problema neurológico durante los primeros 6 meses desde el inicio del ciclo de rituximab, tanto clínica como de las pruebas complementarias (potenciales evocados, LCR, RMN...) hasta donde esto pueda ser posible (no se considerarán las alteraciones residuales que puedan quedar en las exploraciones complementarias sin traducción clínica relevante).
 - Respuesta parcial de la complicación neurológica: mejoría $> 20\%$

desde basal de la clínica y las exploraciones complementarias sin recuperación completa durante los primeros 6 meses desde el inicio del ciclo de rituximab.

- Fallo del tratamiento de la complicación neurológica: progresión >20% desde basal de la clínica y las exploraciones complementarias dentro de los 4 primeros meses del ciclo de rituximab.
- Fecha del desenlace (objetivo) cutáneo, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo cutáneo.
 - Respuesta completa del rash cutáneo: blanqueo >50% de las lesiones cutáneas (dentro de los primeros 6 meses)
 - Respuesta parcial del rash cutáneo: blanqueo <50% de las lesiones cutáneas (dentro de 2 primeros meses del ciclo de rituximab y durante más de 6 meses).
 - Fallo del tratamiento del rash cutáneo: no mejoría o progresión de las lesiones cutáneas.
- Fecha del desenlace (objetivo) músculo-esquelético, definida como la fecha en la que se alcanza por primera vez el objetivo músculo-esquelético.
 - Respuesta completa músculo-esquelética: desaparición de la artritis o miositis.
 - Respuesta parcial músculo-esquelética: mejoría de una artritis intensa (limitación funcional) a una artritis leve o desde una miositis grave a una leve.
 - Fallo del tratamiento músculo-esquelético: no mejoría o progresión de las complicaciones.

4.3.4. Variables de laboratorio en relación con la respuesta al tratamiento

- Recuento de leucocitos ($10^9/l$)
- Recuento de neutrófilos ($10^9/l$)
- Recuento de linfocitos ($10^9/l$)
- Hemoglobina (mg/dl)
- Recuento de plaquetas ($10^9/l$)

- Recuento de CD19: cuantificado de 2 maneras distintas: número de células CD19+ por microlitro (céls/ μ l) y como porcentaje de céls. CD19 %)
- VSG (mm/h)
- PCR (mg/l)
- Albúmina sérica (g/dl)
- Creatinina sérica(mg/dl)
- LDH (UI/l)
- Proteinuria de 24horas (g/día)
- Cociente albuminuria/creatinina en orina (mg/g)
- Cociente proteinuria/creatinina en orina (mg/g)
- Sedimento urinario activo, definido como la presencia de > 5 hematíes por campo y/o > 5 leucocitos por campo.
- Fracción del complemento C3 (mg/dl)
- Fracción del complemento C4 (mg/dl)
- Anticuerpos anti-dsDNA (dicotómica): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticuerpos anti-Sm, RNP, Ro, La (dicotómica): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticuerpos anti-cardiolipina, aCL IgG (cuantitativa): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticuerpos anti-cardiolipina, aCL IgM (cuantitativa): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I, anti- β 2-GPI IgG (cuantitativa): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I, anti- β 2-GPI IgM (cuantitativa): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.
- Anticoagulante lúpico (dicotómica): considerando positivo un valor por encima del rango de referencia del laboratorio local.

4.3.5. Variables en relación con el perfil de seguridad

- Acontecimientos/eventos adversos relevantes, definidos según la terminología Med-DRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities Terminology*) (346) y clasificados según:
 - ✓ Su severidad:
 - Leves- moderados (todos aquellos que no fueron graves)
 - Graves, incluyendo eventos fatales (aquellos que causan fallecimiento). Considerando como evento adverso era grave si: conllevaba el fallecimiento, resultaba ser potencialmente mortal, requerí hospitalización, causaba discapacidad/incapacidad prolongada y persistente, inducía una anomalía congénita o necesitaba tratamiento antibiótico intravenoso.
 - ✓ Tipo de evento adverso:
 - Reacción infusional
 - Infección
 - Otros:
 - Displasia cervical
 - Cistitis hemorrágica
 - Empeoramiento de la enfermedad
 - Artralgias
 - Embarazo
 - Trombocitopenia
 - Diarrea
 - Convulsiones
 - Pirexia
 - Vómitos
 - Cáncer de pecho
 - Hemorragia pulmonar
 - Hipertensión pulmonar
 - Edemas
 - Mononeuritis múltiple

- Lupus eritematoso cutáneo
 - SD. Distress respiratorio del adulto
 - Náuseas
 - Ansiedad
 - Desmielinización
 - Cefalea
 - Isquemia periférica
 - Fracaso cardíaco
- Tiempo transcurrido desde la infusión de rituximab hasta sufrir una infección grave
 - Acontecimientos/eventos adversos relevantes, definidos según la terminología Med-DRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities Terminology*) (346) y clasificados según:
 - ✓ Su severidad:
 - Leves- moderados (todos aquellos que no fueron graves)
 - Graves, incluyendo eventos fatales (aquellos que causan fallecimiento). Considerando como evento adverso era grave si: conllevaba el fallecimiento, resultaba ser potencialmente mortal, requerí hospitalización, causaba discapacidad/incapacidad prolongada y persistente, inducía una anomalía congénita o necesitaba tratamiento antibiótico intravenoso.
 - ✓ Tipo de evento adverso:
 - Reacción infusional
 - Infección
 - Otros:
 - Displasia cervical
 - Cistitis hemorrágica
 - Empeoramiento de la enfermedad
 - Artralgias
 - Embarazo
 - Trombocitopenia

- Diarrea
 - Convulsiones
 - Pirexia
 - Vómitos
 - Cáncer de pecho
 - Hemorragia pulmonar
 - Hipertensión pulmonar
 - Edemas
 - Mononeuritis múltiple
 - Lupus eritematoso cutáneo
 - SD. Distress respiratorio del adulto
 - Náuseas
 - Ansiedad
 - Desmielinización
 - Cefalea
 - Isquemia periférica
 - Fracaso cardíaco
- Tiempo transcurrido desde la infusión de rituximab hasta sufrir una infección grave

4.3.6. Variables en relación con el perfil cardiovascular

- Tabaquismo, definido como una de las siguientes posibilidades (considerado independientemente de la cantidad de cigarrillos diarios):
 - Nunca fumador
 - Fumador actual
 - Exfumador
- Hipertensión arterial, definida según la Guía Europea para la Hipertensión 2007(337), que considera como hipertensión grado 1 los valores por encima o igual a 140/90 mmHg.
- Diabetes mellitus, definida según cualquiera de los siguientes criterios de la ADA (*American Diabetes Association*)(338).
- Peso (kg)

- Talla (m)
- Índice de masa corporal, calculado según la siguiente fórmula: $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{altura}^2 \text{ (metros}^2\text{)}$
- Obesidad definida como un $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$, según los criterios de la OMS(347)
- Dislipemia, definida según las recomendaciones *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP-III) (336).
- Síndrome metabólico, definido según los criterios del *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP-III) (336).
- El *Framingham risk score*(348), calculado según las variables basales
- IAM, diagnosticado con criterios clínicos, electrocardiográficos o enzimáticos.
- Colesterol total (CT), medido en mg/dl
- Colesterol ligado al HDL, medido en mg/dl
- Colesterol ligado a LDL, medido en mg/dl y calculado mediante la fórmula: $LDL = CT - (TG/5 + HDL)$
- Triglicéridos (TG), medidos en mg/dl
- Índice aterogénico del plasma (*Atherogenic Index of Plasma*) (AIP) , calculado mediante la fórmula: $AIP = \log(TG/HDL)$
- Cociente CT/HDL
- Delta-CT a las 24 semanas, definido como la diferencia entre las cifras de CT basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-TG a las 24 semanas, definido como la diferencia entre las cifras de TG basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-HDL a las 24 semanas, definido como la diferencia entre las cifras de HDL basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-LDL a las 24 semanas, definido como la diferencia entre las cifras de LDL basales y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-CT/HDL a las 24 semanas, definido como la diferencia entre el cociente de CT/HDL basal y a las 24 semanas del primer curso de rituximab.
- Delta-CT al final del seguimiento, definido como la diferencia entre las cifras

de CT basales y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).

- Delta-TG al final del seguimiento, definido como la diferencia entre las cifras de TG basales y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).
- Delta-HDL al final del seguimiento, definido como la diferencia entre las cifras de HDL basales y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).
- Delta-LDL al final del seguimiento, definido como la diferencia entre las cifras de LDL basales y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).
- Delta-CT/HDL al final del seguimiento, definido como la diferencia entre el cociente CT/HDL basal y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de rituximab).

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente estudio no se realizó un cálculo del tamaño muestral puesto que al tratarse de un estudio observacional retrospectivo, nuestra intención fue analizar todos los pacientes disponibles que reunieran los criterios de inclusión.

Se realizó un análisis de la muestra por protocolo ($n = 128$) y un análisis de la muestra por intención de tratar, definida como todos los pacientes que recibieron una infusión de rituximab ($n = 131$).

5.1. Muestra por protocolo

Como requisito de inclusión en el análisis de efectividad tras el primer curso de tratamiento a las 24 semanas (6 ± 3 meses), los pacientes debían tener un seguimiento mínimo de 10 semanas después de la primera infusión de rituximab. Los pacientes que fallecieron durante este periodo también fueron incluidos en el estudio ($n = 116$).

Para el análisis de efectividad al final del seguimiento el requisito era que los pacientes además tenían que haber completado al menos 2 evaluaciones, incluyéndose también los fallecimientos y las pérdidas ($n = 128$).

5.2. Muestra por intención de tratar

Todos los pacientes que recibieron al menos una infusión de rituximab fueron considerados en el análisis de seguridad por intención de tratar al final del estudio, incluso si tenían un seguimiento de menos de 10 semanas (n=131). Para los datos faltantes se usó el método de “última observación realizada”.

La normalidad de la distribución de las variables fue evaluada usando el test de *Kolmogórov-Smirnov*. Para el análisis descriptivo de los resultados, las variables cuantitativas fueron presentadas como media \pm desviación estándar (DE).

El T-test de 2 muestras pareadas o el test de *Wilcoxon* se usaron para analizar los efectos del rituximab, incluyendo las variaciones lipídicas, a las 24 semanas del primer ciclo de tratamiento y al final del seguimiento. El análisis de correlación de *Pearson* o *Spearman* se empleó para investigar las asociaciones potenciales entre variables cuantitativas independientes. El test de *McNemar* se empleó para comparar proporciones correlacionadas. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el test X^2 , test de T- *Student* o el de *Mann-Whitney*, según fuera apropiado.

Las curvas de *Kaplan-Meier* se emplearon para estimar el tiempo hasta la mejor respuesta y el tiempo hasta la recidiva. Las fechas usadas para el cálculo de estas mediciones fue la fecha de puntuación más baja y más alta del test de SELENA-SLEDAI respectivamente. El análisis de regresión logística uni y multivariante se empleó para identificar los factores basales relacionados con las tasas de respuesta, los eventos adversos severos, las infecciones severas y la mortalidad.

Los cambios lipídicos observados a las 24 semanas del tratamiento y al final del seguimiento se incluyeron como variables dependientes en un análisis de regresión lineal multivariante, mediante un procedimiento por pasos hacia adelante. Los cambios en el índice SELENA-SLEDAI, la dosis de glucocorticoides y el tratamiento con hidroxicloroquina y estatinas se incluyeron como posibles variables explicativas independientes. Posteriormente se realizó un segundo modelo de regresión lineal multivariante, donde se añadió la proteinuria a la lista de posibles variables explicativas.

El nivel de significación estadística se estableció como $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó mediante el software SPSS10.0 (Stata Corp., USA).

6. ASPECTOS ÉTICOS Y DE CONFIDENCIALIDAD

Los datos fueron tratados en todo momento de forma confidencial por parte del personal médico dentro del entorno hospitalario. Los pacientes participantes en el estudio se mantuvieron de forma anónima, disociándose los datos clínicos de los identificativos. El estudio LESIMAB se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki en su última revisión. Asimismo se siguieron las normas internacionales relativas a la realización de estudios epidemiológicos, recogidas en las *International Guidelines for Ethical Review of Epidemiological Studies* (Council for the International Organizations of Medical Sciences-CIOMS-Ginebra, 1991; puede bajarse desde <http://www.paho.org/Spanish/BIO/CIOMS.pdf>) y las recomendaciones de la Sociedad Española de Epidemiología sobre la revisión de los aspectos éticos de la investigación epidemiológica, sometiéndose por tanto a la revisión por un comité independiente. El Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Carlos Haya (CEIC) aprobó el estudio como requisito de aceptación central. Se siguieron las directrices de Buenas Prácticas Clínicas extraídas de la Conferencia Internacional de armonización de requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso humano.

Todos los participantes proporcionaron la aceptación de su comité local y el consentimiento informado escrito de los pacientes reclutados. En caso de que un paciente seleccionado hubiera fallecido previo al inicio del estudio, se solicitó el consentimiento informado a los familiares más allegados.

7. CONSISTENCIA INTERNA

Para mejorar la consistencia interna de nuestro estudio, minimizando los sesgos, se llevaron a cabo los siguientes controles de calidad. Tanto la recolección como la informatización de los datos fueron realizadas por reumatólogos de los centros participantes. Para evitar en la medida de lo posible los errores durante la recogida de la información, todos los participantes siguieron un protocolo estandarizado y se

encargaron personalmente del procedimiento. Los cuestionarios empleados para la valoración de la actividad y el daño de la enfermedad, así como de la funcionalidad de los pacientes estaban todos validados internacionalmente.

Los hospitales participantes se caracterizaron por ser centros de tercer nivel con una amplia experiencia en el manejo de pacientes con LES. Todos los investigadores estaban familiarizados con el uso de los índices de actividad empleados en el estudio (SELENA-SLEDAI, SFI y SDI) ya que tenían experiencia en la participación en ensayos clínicos o habían recibido un programa de entrenamiento específico para el manejo de estos índices. Se empleó un proceso de monitorización on-line para analizar la consistencia de los datos recogidos.

8. CONSISTENCIA EXTERNA

Nuestro estudio tiene una buena consistencia externa ya que se trata de una muestra representativa de lupus grave refractario y se realizó en condiciones de práctica clínica. Por tanto, consideramos que las conclusiones obtenidas de nuestro estudio podrían ser aplicables a este tipo concreto de población a nivel nacional. Por otro lado, dado que la gran mayoría de los pacientes de la muestra eran caucásicos, nuestros resultados podrían también tener aplicabilidad al resto de lupus refractarios de la población europea.

RESULTADOS

VII. RESULTADOS

1. RESULTADOS DE LA MUESTRA INICIAL DE LESIMAB

1.1. Características basales de los pacientes seleccionados

La base de datos completa de LESIMAB partía en un principio de 131 pacientes con LES refractario que habían recibido al menos una infusión de rituximab en el periodo de tiempo comprendido entre el 18 de noviembre del 2003 hasta el 5 de febrero del 2009. Este conjunto de pacientes ($n=131$) constituía la muestra por intención de tratar y suponía un 7,9 % (rango de 1,5 a 9,4) de los 1.659 pacientes en seguimiento en los 19 hospitales participantes en el estudio.

De estos 131 pacientes, 3 fueron excluidos por falta de visita de seguimiento en el momento del cierre del estudio. Los 128 restantes constituyeron por tanto la muestra por protocolo (ver figura 8 más adelante).

En la tabla 10 se pueden observar las características basales de los mismos. Como puede verse, la mayoría de la muestra estaba compuesta por mujeres jóvenes caucásicas. Solo un pequeño porcentaje eran hispanoamericanos (5,5 %) o de otras etnias (2,3 %). La duración media de la enfermedad desde el diagnóstico fue de 7 años. Todos ellos se caracterizaban por tener una enfermedad grave considerando el elevado número de criterios ACR acumulados hasta ese momento, la gran cantidad de fármacos que habían recibido contra el lupus y el número de órganos que se habían visto afectados de forma grave durante el curso de la enfermedad (media de 2 órganos afectados de forma severa, principalmente el riñón). Doce pacientes de la muestra (9,4%) habían sufrido previamente algún tipo de infección grave, incluyendo neumonía por *Nocardia*, tuberculosis miliar, osteomielitis por *staphylococcus*, artritis por *staphylococcus* o sepsis.

Así mismo el grado de comorbilidad de estos pacientes era desproporcionado al compararlos con individuos de la misma edad pero libres de la enfermedad. Mostraban un índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad de $2,2 \pm 1,4$ (media \pm DE). También cabe destacar que se observó una prevalencia inusualmente elevada de síndrome antifosfolípido (casi una cuarta parte de la muestra).

En cuanto a la afectación renal, 63 pacientes tenían o habían tenido en algún momento nefritis lúpica. De todos ellos se disponía de 55 biopsias renales, catalogadas según la Clasificación del 2003 de la Sociedad Internacional de Nefrología y Patología renal. Se observaron los siguientes subtipos: nefritis lúpica tipo II (n = 4), tipo III (n = 12), tipo IV (n = 32), tipo V (n = 6) y tipo IV + V (n = 1).

Tabla 10. Características basales de la muestra por protocolo (n=128; pacientes con LES refractario que recibieron al menos un curso de rituximab)

Variable	Pacientes con LES
Edad, media años \pm DE	38,2 \pm 12,1
Sexo femenino, n (%)	115 (89,8)
Raza, n (%)	
Blancos	118 (92,2)
Hispanos	7 (5,5)
Otros	3 (2,3)
Duración enfermedad desde el dx LES, media años \pm DE	7,3 \pm 6,5
Índice comorbilidad Charlson ajustado-edad [¥] , media \pm DE	2,2 \pm 1,4
Infecciones severas previas*, n (%)	12 (9,4)
Nº criterios ACR acumulados, media \pm DE	6,5 \pm 1,6
SD. Antifosfolípido, n (%) [†]	30 (23,4)
Órganos/sistemas severamente afectados (previo), media \pm DE [‡]	2,0 \pm 1,3
Músculo-esquelético, n (%)	42 (32,8)
Piel y mucosas, n (%)	25 (19,5)
Riñón, n (%)	63 (49,2)
Hematológico, n (%)	48 (37,5)
Sist. Nervioso, n (%)	27 (21,0)
Cardíaco, n (%)	18 (13,7)
Pulmonar, n (%)	22 (17,1)
Otros, n (%) [§]	18 (14,1)

[¥] Índice de Charlson ajustado por edad (339); * Incluye infecciones difíciles de erradicar, e.g. hepatitis B o C, tuberculosis, infecciones fúngicas invasivas, osteomielitis por staphylococcus, etc.

[†] Revisión de Sydney de los criterios de Sapporo(340)

[‡] Clasificación de la severidad del LES según los criterios(341):

Leve: sin afectación (actual o pasada) de órganos vitales como riñones, sistema nervioso central, corazón o pulmones.

Moderada: afectación solo de 1 de estos órganos

Severa: \geq 2 órganos han sido afectados o se ha requerido tratamientos agresivos por complicaciones (más 50mg de prednisona diaria o bolos de esteroides o bolos de ciclofosfamida)

[§] Cuadro constitucional, afectación hepática, vascular, u oftalmológica.

DE: desviación estándar; dx: diagnóstico; SD: síndrome

Como se puede observar en la tabla 11, el número medio de tratamientos recibidos contra la enfermedad era elevado. Todos los pacientes habían sido tratados con corticoides, habiendo precisado infusión de bolos intravenosos en más de la mitad de los casos. Casi la totalidad de la muestra había recibido antipalúdicos (cloroquina/hidroxicloroquina) y en 30 de los casos inmunoglobulinas intravenosas. Sin embargo, a pesar de haber sido tratados previamente con al menos 2 inmunosupresores y a pesar de estar recibiendo glucocorticoides en el momento inicial del estudio, todos los pacientes mostraban actividad significativa de la enfermedad al inicio del tratamiento.

Tabla 11. Tratamientos recibidos previamente contra la enfermedad de la muestra por protocolo (n=128; pacientes con LES refractario que recibieron al menos un curso de rituximab)

Variable	Pacientes
Tratamientos previos, media \pm DE	5,3 \pm 1,7
Cloroquina/ hidroxicloroquina, n (%)	113 (88,3)
Glucocorticoides, n (%)	128 (100)
Bolos de glucocorticoides, n (%)	72 (56,3)
Azatioprina, n (%)	88 (68,7)
Altas dosis de metilprednisolona iv*, n (%)	75 (55,7)
Bolos de ciclofosfamida, n (%)	66 (51,5)
Micofenolato mofetilo, n (%)	54 (42,2)
Metotrexato, n (%)	48 (37,5)
Anticoagulantes, n (%)	35 (27,3)
Inmunoglobulinas iv, n (%)	30 (23,4)
Anti-TNF α , n (%)	12 (9,4)
Ciclosporina A, n (%)	10 (7,8)
Leflunomida, n (%)	9 (7,0)
Esplenectomía, n (%)	6 (4,7)
Tacrolimus, n (%)	4 (3,1)
Danazol, n (%)	4 (3,1)
Epratuzumab, n (%)	2 (1,6)
Mercaptopurina, n (%)	1 (0,8)

DE: desviación estándar;

*Dosis superiores a 100mg/día en cualquier momento durante su evolución

1.2. Actividad basal de la enfermedad

Como comentábamos anteriormente, la mayoría de los pacientes tenían enfermedad activa antes del inicio del tratamiento a pesar del número elevado de tratamientos

recibidos previamente contra la enfermedad y a pesar de estar siendo tratados con dosis moderadas o altas de glucocorticoides en el momento de comenzar el estudio (dosis media \pm DE, $0,5 \pm 0,8$ mg/kg/día). En la tabla 12 se pueden observar los distintos parámetros clínicos y de laboratorio relacionados con la actividad basal de la enfermedad. De hecho 75 pacientes (58,6%) tenían un índice SELENA-SLEDAI alto o muy alto al inicio del estudio, con una media de $14,6 \pm 10,0$ (media \pm DE). La media de criterios SFI de brote grave era de $2,1 \pm 1,3$ (media \pm DE). Como parámetros analíticos relevantes, un 65,3% de la muestra tenían anticuerpos anti-dsDNA positivos en el momento basal y las cifras medias de C3 y C4 eran respectivamente $74,3 \pm 30,8$ y $11,6 \pm 7,1$ mg/dl (media \pm DE). La proteinuria media era de $1,6 \pm 2,4$ g/día (media \pm DE).

Tabla 12. Actividad de la enfermedad a nivel basal de la muestra por protocolo (n=128)

Variable	Pacientes
HAQ (0-3), media \pm DE	$1,253 \pm 0,689$
SDI (0-49), media \pm DE	$1,7 \pm 2,1$
SELENA-SLEDAI (0-105), media \pm DE	$14,6 \pm 10,0$
Nº criterios leve-moderado SFI, media \pm DE	$1,3 \pm 0,9$
Nº criterios graves SFI, media \pm DE	$2,1 \pm 1,3$
Nº signos leve-moderado SFI, media \pm DE	$1,0 \pm 1,1$
Nº signos graves SFI, media \pm DE	$0,78 \pm 0,7$
Prednisona(mg/día), media \pm DE§	$32,4 \pm 57,3$
Prednisona(mg/kg/día), media \pm DE§	$0,5 \pm 0,8$
Ac. Anti-dsDNA +, n(%)	66 (65,3)
C3 (mg/dl), media \pm DE	$74,3 \pm 30,8$
C4 (mg/dl), media \pm DE	$11,6 \pm 7,1$
Proteinuria (g/día), media \pm DE	$1,6 \pm 2,4$

§Equivalentes de prednisona; Ac. Anti-dsDNA: anticuerpos anti-DNA de doble cadena; C3: fracción C3 del complemento; C4: fracción C4 del complemento; HAQ: *HealthAssessmentQuestionare*; DE: *Desviación estándar*; SDI: *Systemic lupus internationalcollaboratingclinics American College of Rheumatologydamageindex*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus NationalAssessment*- índice de actividad del LES; SFI: *SELENA-SLEDAI FlareIndex*.

1.3. Régimen de administración de rituximab y tratamiento concomitante

En la tabla 13 se pueden observar los distintos regímenes de administración de rituximab y las terapias concomitantes. A casi todos los pacientes del estudio se les

administró la pauta de 2 dosis de 1.000 mg de rituximab administradas separadamente 14 días. Un 30% recibió 4 dosis semanales de 375 mg/m² y 7 pacientes aislados recibieron otro tipo de pauta. En cuanto al número de cursos de rituximab, 69 pacientes recibieron más de un curso. En 31 de los casos el curso se repitió por necesidades clínicas y en el resto según el protocolo semestral establecido (un curso de rituximab cada 6 meses). En total, 30 pacientes (22,9%) recibieron 2 ciclos, 22 pacientes (16,8%) 3 ciclos, 11 pacientes (8,4%) 4 ciclos, 4 pacientes (3,1%) 5 ciclos, 1 paciente (0,8%) 7 ciclos y 1 paciente (0,8%) 9 ciclos.

Tabla 13. Régimen de administración de rituximab y tratamientos concomitantes de la muestra por protocolo (n=128).

Variable	Pacientes
Rituximab, n (%)	
1 g x 2	83 (64,8)
0,375 g/m ² x 4	38 (29,7)
Otras pautas	7 (5,5)
Tratamiento concomitante, n (%)	
Prednisona	126 (98,4)
Ciclofosfamida	32 (24,0)
A la par de las infusiones de rituximab	27 (21,1)
Mensual	5 (3,9)
Bolos Prednisolona	23 (17,0)
Bolos Prednisolona y Ciclofosfamida	10 (7,8)
Azatioprina, mg/día	25 (19,5)
Metotrexato, mg/semanal	18 (14,1)
Micofenolato mofetilo	15 (11,7)
Otros agentes inmunosupresores	9 (7,0)
Hidroxiclороquina, mg/día	58 (45,3)

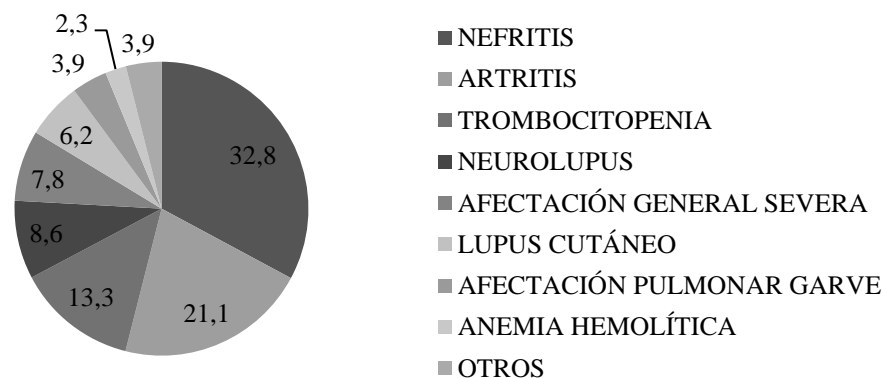
g: gramo; g/m²: gramo/metro²

Todos los pacientes salvo 2 recibieron glucocorticoides a la par que rituximab. En cuanto al tratamiento concomitante con otros inmunosupresores, rituximab fue administrado en monoterapia en 16 casos. Otros 16 recibieron rituximab combinado solamente con hidroxiclороquina. En los restantes pacientes rituximab se añadió al tratamiento inmunosupresor previo: ciclofosfamida (n = 32), azatioprina (n = 25, con una dosis media \pm DE de 108,0 \pm 31,2 mg/día), metotrexato (n = 18, con una dosis media de 16,7 \pm 9,4 mg/semanal), micofenolato mofetilo (n = 15) y otros inmunosupresores (n = 9).

1.4. Indicaciones de rituximab

Aunque cabe destacar que en el momento de indicar la terapia con rituximab, la mayoría de los pacientes presentaban un brote generalizado de la enfermedad. En ellos el brote se caracterizó por una combinación de artritis, nefritis y rash cutáneo. Concretando por órganos y sistemas, las indicaciones terapéuticas primarias de rituximab fueron las siguientes (ver figura 7): nefritis (n = 42), artritis (n = 27), trombocitopenia (n = 17), manifestaciones neurológicas (n = 11), afectación general severa (n = 10), lupus cutáneo (n=8), complicaciones pulmonares graves (n = 5), anemia hemolítica (n=3) y otras complicaciones (n = 5).

Figura 7. Diagrama de sectores que muestra las indicaciones primarias de rituximab (n=128).

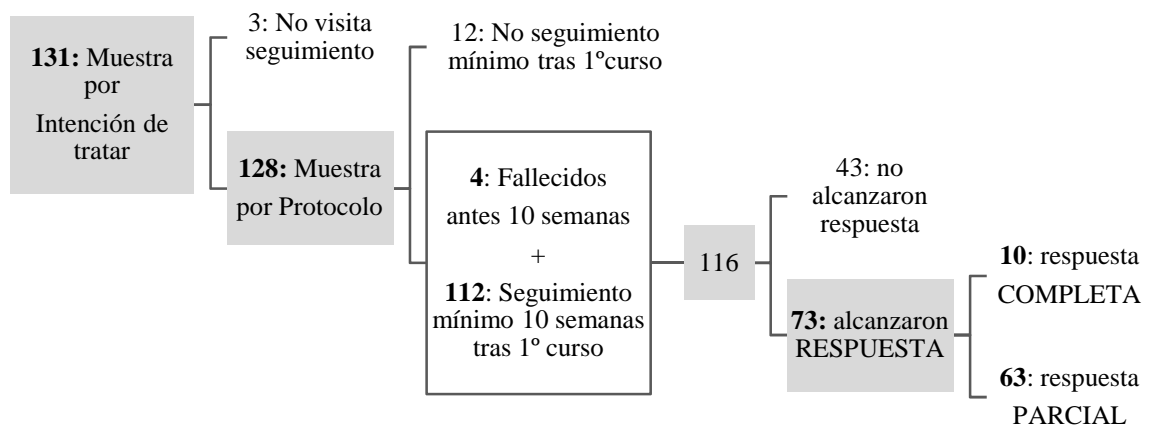


1.5. Respuesta clínica después del primer curso de rituximab

Como se puede observar en el flujo de pacientes (figura 8), 112 pacientes completaron el tiempo de seguimiento mínimo de 10 semanas tras el primer curso de rituximab. El seguimiento medio tras el primer curso fue de 26,7 semanas (rango 11,1 – 42,1). De entre los restantes pacientes, 4 fallecieron antes de completar el tiempo mínimo de seguimiento pero también se incluyeron en el análisis de efectividad (n = 116).

De estos 116 pacientes, un total de 73 casos (62,9%; IC 95%, 49,3 – 79,1) alcanzaron una respuesta clínica tras el primer curso de rituximab. Dentro del grupo de respondedores, 10 pacientes (8,6%; IC 95%, 4,1 – 16,8) alcanzaron una respuesta completa y 63 (54,3%, IC 95%, 41,7 – 69,5) una respuesta parcial. La mejor respuesta clínica se observó en los pacientes con artritis (81,5%), manifestaciones cutáneas (87,5%), nefritis (65,8%), afectación neuropsiquiátrica relacionada con el LES (73%), trombocitopenia (65%) y brote sistémico generalizado (40%).

Figura 8. Flujo de pacientes para el análisis de efectividad tras el primer curso de rituximab.



Como se puede observar en las tablas 14-16, todas las variables clínicas y de laboratorio relacionadas con la enfermedad, mejoraron tras el primer curso de rituximab. Concretamente se objetivó una disminución de las cifras de proteinuria y una mejoría de los niveles de C3 y C4. Tras el tratamiento, los anticuerpos anti-dsDNA, fueron negativos en 49 de 66 pacientes. También se observó una modesta pero significativa reducción en los títulos de anticuerpos antifosfolípido. En cuanto a la depleción de CD19, sólo se disponía del conteo de estas células en 31 pacientes, de los cuales tras el primer ciclo de rituximab se observó una depleción exitosa de células B (conteo de CD19 $<0,005 \times 10^9/l$) en 21 de los casos (68% de los pacientes).

Así mismo, se observó una mejoría en los test de función física, en el índice SELENA-SLEDAI y en los criterios y signos del SFI. Otro punto relevante fue que la dosis de glucocorticoides disminuyó considerablemente.

Tabla 14. Efectividad del rituximab tras 6 ± 3 meses del primer curso (muestra por protocolo, n=128)

Variable	Basal	1º curso n=116*	p valor
HAQ (0-3), media \pm DE	1,253 \pm 0,689	0,674 \pm 0,556	p<0,001
SDI (0-49), media \pm DE	1,7 \pm 2,1	1,8 \pm 2,2	p=0,007
SELENA-SLEDAI(0-105), media \pm DE	14,6 \pm 10,0	4,8 \pm 4,5	p<0,001
Nº criterios leve-moderado SFI, media \pm DE	1,3 \pm 0,9	0,78 \pm 0,06	p<0,001
Nº criterios graves SFI, media \pm DE	2,1 \pm 1,3	0,37 \pm 0,76	p<0,001
Nº signos leve-moderado SFI, media \pm DE	1,0 \pm 1,1	0,14 \pm 0,52	p<0,001
Nº signos graves SFI, media \pm DE	0,78 \pm 0,7	0,07 \pm 0,25	p<0,001
Prednisona (mg/día), media \pm DE§	32,4 \pm 57,3	11,7 \pm 11,9	p<0,001
Prednisona (mg/kg/día), media \pm DE§	0,5 \pm 0,8	0,15 \pm 0,15	p<0,001
Nuevo AINE o HCQ (para LES), n (%)	21 (16,4)	11 (9,6)	p=0,049
Nuevo inmunosupresor (para LES), n (%)	40 (31,3)	22 (19,3)	p=0,026
Hospitalización, n (%)	62 (48,4)	17 (14,9)	p<0,001

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42.

AINE: antiinflamatorios no esteroideos; DE: desviación estándar; HAQ: *HealthAssessmentQuestionnaire*; HCQ: hidroxiclороquina; LES: lupus eritematoso sistémico; SDI: *Systemic lupus internationalcollaboratingclinics American College of Rheumatologydamageindex*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus NationalAssessment*- índice de actividad del LES; SFI: *SELENA-SLEDAI FlareIndex*; §Equivalente de prednisona.

Tabla 15. Evolución de los signos SFI (leve-moderados y graves) tras 6 ± 3 meses del primer curso (muestra por protocolo, n=128)

Signos SFI	Basal	1º curso n=116*	p valor
Rash, n (%)‡	31 (24,2)	8 (7,0)	p=0,001
Úlceras nasofaríngeas, n (%)	10 (7,8)	3 (2,6)	p=0,109
Pleuritis, n (%)	8 (6,3)	1 (1,0)	p=0,031
Pericarditis, n (%)	7 (5,5)	2 (1,7)	p=0,031
Artritis, n (%)	54 (42,2)	4 (3,5)	p<0,001
Fiebre (lupus), n (%)	17 (13,3)	3 (2,6)	p=0,001
Neuropsiquiátrico (lupus), n (%)	7 (5,5)	1 (0,9)	p=0,031
Vasculitis sistémica, n (%)	6 (4,7)	2 (1,7)	p=0,063
Nefropatía, n (%)	44 (34,4)	9,0 (7,9)	p<0,001
Miositis, n (%)	4 (3,1)	2 (1,7)	p=0,125
Plaquetas <60 (109/L), n (%)	21 (16,4)	3 (2,6)	p<0,001
Anemia hemolítica, n (%)	6 (4,7)	1 (1,0)	p=0,125

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42. ‡Incluidas vasculitis cutáneas.

Tabla 16. Evolución de los parámetros de laboratorio tras 6 ± 3 meses del primer curso de rituximab (muestra por protocolo, n=128)

Variable	Basal	1º curso n=116*	p valor
Leucocitos ($10^9/L$), media ± DE	6,1 ± 3,2	6,4 ± 3,6	p=0,396
Neutrófilos ($10^9/L$), media ± DE	4,1 ± 2,6	4,1 ± 3,1	p=0,776
Linfocitos ($10^9/L$), media ± DE	1,3 ± 0,8	1,5 ± 0,8	p=0,010
Hemoglobina (g/dl), media ± DE	11,5 ± 2,1	12,5 ± 1,7	p<0,001
Plaquetas ($10^9/L$), media ± DE	217,9 ± 119,5	238,7 ± 93,4	p=0,024
CD19+ (cél/s/μl), media ± DE	98,6 ± 83,5	3,4 ± 5,1	p<0,001
CD19+ (%), media ± DE	9,5 ± 14,3	1,4 ± 3,2	p<0,001
VSG (mm), media ± DE	34,5 ± 24,7	20,2 ± 16,0	p<0,001
PCR (mg/l), media ± DE	12,7 ± 3	5,9 ± 10,1	p<0,001
Albúmina sérica (g/dl), media ± DE	4,4 ± 5,4	4,1 ± 0,5	p<0,001
Creatinina sérica (mg/dl), media ± DE	1,0 ± 1,1	0,9 ± 0,4	p=0,123
Proteinuria (g/día), media ± DE	1,6 ± 2,4	0,8 ± 1,2	p=0,005
C3 (mg/dl), media ± DE	74,3 ± 30,8	92,6 ± 30,6	p<0,001
C4 (mg/dl), media ± DE	11,6 ± 7,1	16,6 ± 8,8	p<0,001
Anti-dsDNA+, n (%)	66 (65,3)	41 (52,6)	p=0,019
aCLIgG, media ± DE	34,0 ± 59,0	22,6 ± 48,4	p=0,025
aCLIgM, media ± DE	14,2 ± 21,4	13,2 ± 24,8	p=0,218
Anti-β2-GPI IgG, media ± DE	25,2 ± 62,9	12,4 ± 20,8	p=0,867
Anti-β2-GPI IgM, media ± DE	9,1 ± 15,4	9,6 ± 14,3	p=0,601
Anticoagulante lúpico, n (%)	27 (31,4)	13 (21,3)	p=0,008

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42.

aCL: anticuerpos anticardiolipina; Anti-dsDNA: anticuerpos anti-DNA doble cadena; Anti-β2-GPI: anticuerpos anti-β2-glicoproteína I; CD19+: linfocitos CD19+; C3: fracción del complemento; C4: fracción del complemento; DE: desviación estándar; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación glomerular.

1.6. Efectividad del rituximab durante el seguimiento

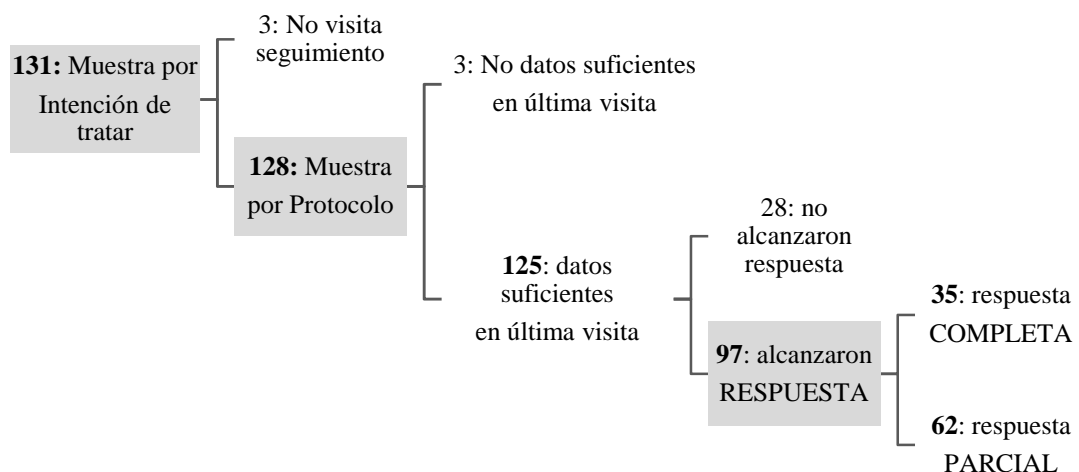
El análisis de efectividad al final del seguimiento se realizó sobre la muestra por protocolo (n = 128). Sin embargo, al realizar el análisis en la muestra por intención

de tratar ($n = 131$) se observaron resultados similares.

Por tanto, partimos de la muestra de 128 pacientes que tenían al menos una medida de efectividad tras el momento basal. La media de seguimiento fue de $20,0 \pm 15,2$ meses (rango, 0,46 – 69,9) y el seguimiento total de la muestra fue de 213,46 pacientes-año. La media de cursos administrados fue de $2,0 \pm 1,3$ cursos.

Como se puede observar en la figura 9, en el caso de 3 pacientes no había datos suficientes disponibles para calcular SELENA-SLEDAI en la última visita. Por tanto, dispusimos de 125 pacientes (95,4%), que reunían los datos necesarios para evaluar la tasa de respuesta al final del seguimiento. De estos 125, 97 pacientes (77,6%; IC 95%, 62,9 – 94,7) respondieron al tratamiento. De entre el grupo de respondedores, 35 pacientes (28,0%; 95% IC, 19,5 – 38,9) alcanzaron una respuesta completa y 62 pacientes (49,6%; 95% IC, 38,0 – 63,6) alcanzaron una respuesta parcial. El tiempo medio transcurrido hasta alcanzar la mejor respuesta fue de 6,5 meses (95% IC, 5,0 – 8,0) (figura 10).

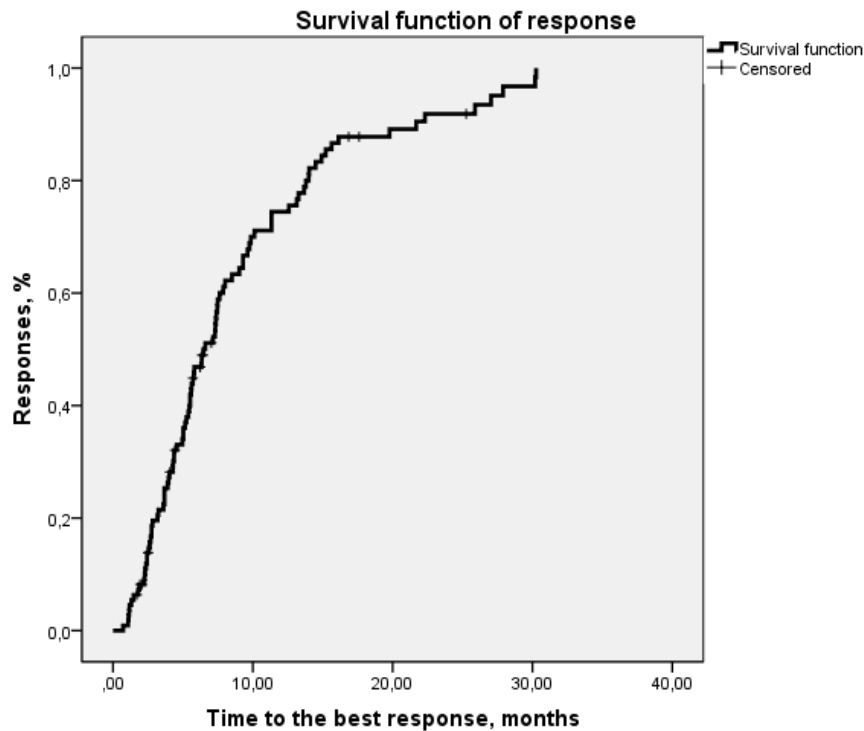
Figura 9. Flujo de pacientes para el análisis de efectividad al final del seguimiento.



Las mejores respuestas clínicas al final del seguimiento se observaron en los grupos de pacientes con artritis (93%), afectación cutánea (87,5%), nefritis (82,5%), manifestaciones neuropsiquiátricas (73%), trombocitopenia (65%) o brote

generalizado severo (62,5%).

Figura 10. Tiempo transcurrido hasta alcanzar la mejor respuesta durante el seguimiento (tras la administración del primer curso de rituximab)



Así mismo, las mejorías clínicas y de laboratorio observadas en un primer momento con rituximab se mantuvieron hasta el final del seguimiento (tablas 17-19). Se observó un descenso en las cifras de proteinuria y una mejoría de los niveles del complemento. Los anticuerpos anti-dsDNA se negativizaron en 49 de los 66 pacientes y los títulos de los anticuerpos antifosfolípidicos continuaron disminuyeron con respecto a la medida de las 24 semanas.

La mejoría en los índices de actividad (SELENA-SLEDAI y SFI) así como el índice de funcionalidad HAQ se mantuvo a lo largo del seguimiento. Un dato relevante fue que la dosis media de glucocorticoides al final del seguimiento disminuyó hasta 1/3 de la requerida inicialmente. Es más, se observó que la dosis requerida de corticosteroides resultó ser menor en los pacientes respondedores que en los no respondedores ($8,5 \pm 8,4$ vs $16,5 \pm 17,4$ mg/día; $p=0,007$).

Tabla 17. Efectividad del rituximab a lo largo del seguimiento

Variables de efectividad	Basal	1º curso n=116*	Seguimiento n=128†
HAQ (0-3), media \pm DE	1,253 \pm 0,689	0,674 \pm 0,556 P<0,001	0,615 \pm 0,698 P<0,001
SDI (0-49), media \pm DE	1,7 \pm 2,1	1,8 \pm 2,2 p=0,007	1,8 \pm 2,1 p=0,001
SELENA-SLEDAI(0-105), media \pm DE	14,6 \pm 10,0	4,8 \pm 4,5 P<0,001	4,8 \pm 5,6 P<0,001
Nº criterios leve-moderado SFI, media \pm DE	1,3 \pm 0,9	0,78 \pm 0,06 P<0,001	0,75 \pm 0,82 P<0,001
Nº criterios graves SFI, media \pm DE	2,1 \pm 1,3	0,37 \pm 0,76 P<0,001	0,57 \pm 0,97 P<0,001
Nº signos leve-moderado SFI, media \pm DE	1,0 \pm 1,1	0,14 \pm 0,52 P<0,001	0,23 \pm 0,57 P<0,001
Nº signos graves SFI, media \pm DE	0,78 \pm 0,7	0,07 \pm 0,25 P<0,001	0,14 \pm 0,41 P<0,001
Prednisona (mg/día), media \pm DE§	32,4 \pm 57,3	11,7 \pm 11,9 P<0,001	10,2 \pm 11,4 P<0,001
Prednisona (mg/kg/día), media \pm DE§	0,5 \pm 0,8	0,15 \pm 0,15 P<0,001	0,16 \pm 0,18 P<0,001
Nuevo AINE o HCQ (para LES), n (%)	21 (16,4)	11 (9,6) p=0,049	15 (11,9) p=0,263
Nuevo inmunosupresor (para LES), n (%)	40 (31,3)	22 (19,3) p=0,026	25 (19,8) p=0,037
Hospitalización, n (%)	62 (48,4)	17 (14,9) P<0,001	22 (17,5) P<0,001

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42.

†Pacientes que completaron al menos 2 evaluaciones (incluidos fallecimientos y las pérdidas de seguimiento).

AINE: antiinflamatorios no esteroideos; DE: desviación estándar; HAQ: *HealthAssessmentQuestionnaire*; HCQ: hidroxiclороquina; LES: lupus eritematoso sistémico; SDI: *Systemic lupus internationalcollaboratingclinics American College of Rheumatologydamageindex*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus NationalAssessment*- índice de actividad del LES; SFI: *SELENA-SLEDAI FlareIndex*; §Equivalente de prednisona.

Tabla 18. Evolución de los signos SFI (leve-moderados y graves) durante el seguimiento

Signos SFI	Basal	1º curso n=116*	Seguimiento n=128†
Rash, n (%)‡	31 (24,2)	8 (7,0) p=0,001	9 (7,1) p=0,001
Úlceras nasofaríngeas, n (%)	10 (7,8)	3 (2,6) p=0,109	4 (3,2) p=0,146
Pleuritis, n (%)	8 (6,3)	1 (1,0) p=0,031	3 (2,4) p=0,125
Pericarditis, n (%)	7 (5,5)	2 (1,7) p=0,031	3 (2,4) p=0,289
Artritis, n (%)	54 (42,2)	4 (3,5) P<0,001	8 (6,3) P<0,001
Fiebre (lupus), n (%)	17 (13,3)	3 (2,6) p=0,001	2 (1,6) p=0,001
Neuropsiquiátrico (lupus), n (%)	7 (5,5)	1 (0,9) p=0,031	1 (0,8) p=0,031
Vasculitis sistémica, n (%)	6 (4,7)	2 (1,7) p=0,063	1 (0,8) p=0,125
Nefropatía, n (%)	44 (34,4)	9,0 (7,9) P<0,001	9 (7,2) P<0,001
Miositis, n (%)	4 (3,1)	2 (1,7) p=0,125	0 p=0,125
Plaquetas <60 (10 ⁹ /L), n (%)	21 (16,4)	3 (2,6) P<0,001	6 (4,8) p=0,003
Anemia hemolítica, n (%)	6 (4,7)	1 (1,0) p=0,125	2 (1,6) p=0,289

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42.

†Pacientes que completaron al menos 2 evaluaciones (incluidos fallecimientos yy las pérdidas de seguimiento).

‡Incluidas vasculitis cutáneas.

Tabla 19. Evolución de los parámetros de laboratorio durante el seguimiento

Variable	Basal	1º curso n=116*	Seguimiento n=128†
Leucocitos ($10^9/L$), media \pm DE	6,1 \pm 3,2	6,4 \pm 3,6 p=0,396	6,3 \pm 3,3 p=0,441
Neutrófilos ($10^9/L$), media \pm DE	4,1 \pm 2,6	4,1 \pm 3,1 p=0,776	7,3 \pm 29,3 p=0,415
Linfocitos ($10^9/L$), media \pm DE	1,3 \pm 0,8	1,5 \pm 0,8 p=0,010	1,7 \pm 1,7 p=0,002
Hemoglobina (g/dl), media \pm DE	11,5 \pm 2,1	12,5 \pm 1,7 P<0,001	12,5 \pm 1,8 P<0,001
Plaquetas ($10^9/L$), media \pm DE	217,9 \pm 119,5	238,7 \pm 93,4 p=0,024	218,6 \pm 94,1 p=0,998
CD19+ (cél/s/ μ l), media \pm DE	98,6 \pm 83,5	3,4 \pm 5,1 P<0,001	12,0 \pm 17,1 P<0,001
CD19+ (%), media \pm DE	9,5 \pm 14,3	1,4 \pm 3,2 P<0,001	1,7 \pm 2,6 P<0,001
VSG (mm), media \pm DE	34,5 \pm 24,7	20,2 \pm 16,0 P<0,001	19,2 \pm 16,9 P<0,001
PCR (mg/l), media \pm DE	12,7 \pm 3	5,9 \pm 10,1 P<0,001	7,2 \pm 16,6 p=0,003
Albúmina sérica (g/dl), media \pm DE	4,4 \pm 5,4	4,1 \pm 0,5 P<0,001	4,1 \pm 0,7 P<0,001
Creatinina sérica (mg/dl), media \pm DE	1,0 \pm 1,1	0,9 \pm 0,4 p=0,123	0,9 \pm 0,6 p=0,830
Proteinuria (g/día), media \pm DE	1,6 \pm 2,4	0,8 \pm 1,2 p=0,005	0,6 \pm 1,0 P<0,001
C3 (mg/dl), media \pm DE	74,3 \pm 30,8	92,6 \pm 30,6 P<0,001	93,0 \pm 31,4 P<0,001
C4 (mg/dl), media \pm DE	11,6 \pm 7,1	16,6 \pm 8,8 P<0,001	18,6 \pm 15,4 P<0,001
Anti-dsDNA+, n (%)	66 (65,3)	41 (52,6) p=0,019	32 (39,5) P<0,001
aCLIgG, media \pm DE	34,0 \pm 59,0	22,6 \pm 48,4 p=0,025	14,7 \pm 27,6 p=0,001
aCLIgM, media \pm DE	14,2 \pm 21,4	13,2 \pm 24,8 p=0,218	8,0 \pm 11,7 p=0,561
Anti- β 2-GPI IgG, media \pm DE	25,2 \pm 62,9	12,4 \pm 20,8 p=0,867	14,7 \pm 27,6 p=0,258
Anti- β 2-GPI IgM, media \pm DE	9,1 \pm 15,4	9,6 \pm 14,3 p=0,601	4,9 \pm 8,5 p=0,475
Anticoagulante lúpico, n (%)	27 (31,4)	13 (21,3) p=0,008	12 (23,1) p=0,016

*Pacientes que completaron un seguimiento de al menos 10 semanas y pacientes que fallecieron antes de completar el seguimiento medio de 10 semanas. Seguimiento entre las semanas 11-42.

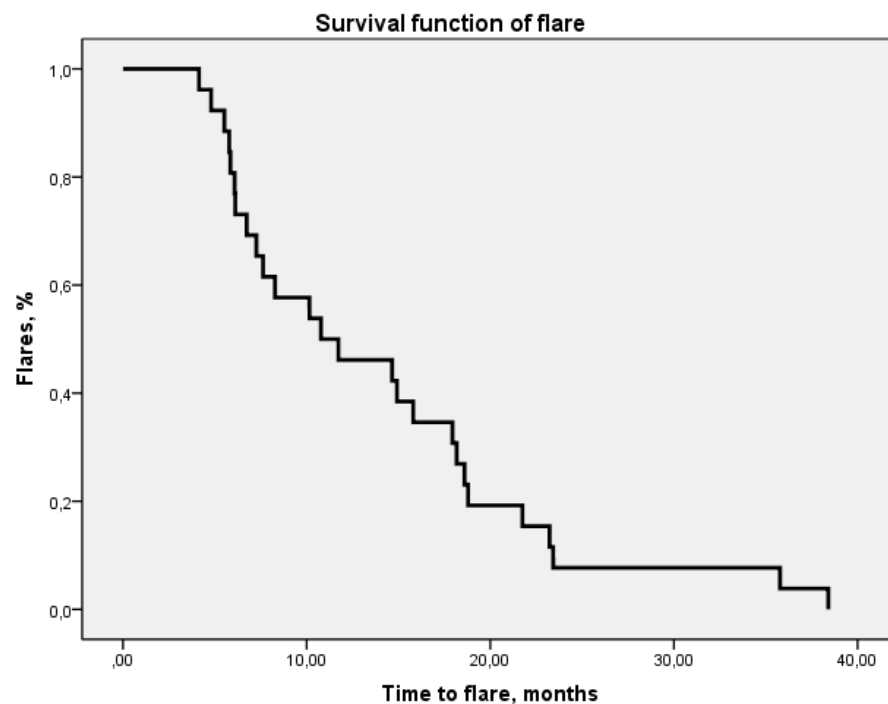
†Pacientes que completaron al menos 2 evaluaciones (incluidos fallecimientos y las pérdidas de seguimiento).

aCL: anticuerpos anticardiolipina; Anti-dsDNA: anticuerpos antiDNA doble cadena; Anti- β 2-DE: desviación estándar; GPI: anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I; CD19+: linfocitos CD19+; C3: fracción del complemento; C4: fracción del complemento; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación glomerular.

1.7. Recidivas

De los 97 pacientes respondedores, 36 pacientes (38,1%; 95% IC, 26,8 – 52,6) recidivaron tras una media de 10,8 meses (95% IC, 2,8 – 18,7) tras la administración del primer ciclo de rituximab (figura 11). Del grupo de las recidivas, 7 pacientes (7,2%; 95% IC, 2,9 – 1,5) sufrieron un brote severo de la enfermedad, mientras que 29 pacientes (29,9%; 95% IC, 20,0 – 42,9) sufrieron un brote leve o moderado, medido por SFI.

Figura 11. Tiempo transcurrido hasta la recidiva durante el seguimiento (tras la administración del primer curso de rituximab)



1.8. Factores relacionados con la efectividad

Para el análisis de los distintos factores que pudieran estar involucrados en la efectividad del tratamiento se tuvieron en cuenta principalmente las siguientes variables: tratamientos recibidos previamente contra la enfermedad, número acumulado de órganos afectados de forma severa por el lupus, actividad de la enfermedad, pauta de administración de rituximab y cotratamientos. A continuación se detallan los resultados relevantes que se encontraron.

1.8.1. Tratamiento concomitante con ciclofosfamida

Como se observa en la tabla 20, se agruparon los pacientes en dos grupos: aquellos que recibieron tratamiento concomitante con ciclofosfamida y aquellos sin ciclofosfamida, incluyéndose en este último grupo aquellos pacientes tratados con cualquier combinación de otros inmunosupresores distintos a la ciclofosfamida y aquellos pacientes que no recibieron ningún inmunosupresor a la par del rituximab.

En el análisis bivalente se observó que los pacientes que fueron tratados concomitantemente con ciclofosfamida en el momento basal eran más jóvenes, tenían una menor duración de la enfermedad y recibían menos dosis diaria de esteroides en comparación con el grupo sin ciclofosfamida. Por el contrario, llamaba la atención que tenían una mayor gravedad de la enfermedad según el número acumulado de criterios ACR y el índice SELENA-SLEDAI. Sin embargo, tras el tratamiento con rituximab, no se observaron mejores respuestas clínicas o menores tasas de recidiva dentro de este subgrupo. Así mismo, al contrario de lo que cabía esperar, tampoco presentaron más efectos adversos que el resto de pacientes.

Tabla 20. Diferencias basales entre los pacientes con lupus tratados con y sin ciclofosfamida concomitante (ciclofosfamida administrada: 0,750 g/m²)

Variable	Con ciclofosfamida	Sin ciclofosfamida	Valor p
Edad-incidencia (años), media \pm DE	33,1 \pm 9,8	40,3 \pm 129,4	0,001
Duración de la enfermedad (años), media \pm DE	5,2 \pm 4,3	8,1 \pm 6,9	0,049*
Nº criterios ACR, media \pm DE	7,2 \pm 1,5	6,3 \pm 1,6	0,003*
Dosis más alta de corticoides previa (mg/día)‡, media \pm DE	74,0 \pm 44,6	115,9 \pm 180,8	0,036*
Pleuritis, n (%)	5 (15,2)	4 (4,1)	0,044†
Pericarditis, n (%)	5 (15,2)	2 (2,0)	0,011†
Nefritis, n (%)	16 (48,5)	29 (29,6)	0,048
SELENA-SLEDAI (0-105), media \pm DE	17,7 \pm 9,7	13,2 \pm 9,4	0,012*
Brote de enfermedad			
SFI leve/moderado, n (%)	0	12 (12,2)	0,037†
SFI grave, n (%)	33 (100)	84 (85,7)	0,021†
Nº de criterios SFI graves, media \pm DE	2,7 \pm 1,1	1,9 \pm 1,3	0,001*

DE: desviación estándar; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment*-Índice de actividad del LES; SFI: *SELENA-SLEDAI Flare Index*; *Mann-Whitney U test. †Test Fisher. ‡Dosis más alta usada desde el diagnóstico del lupus.

1.8.2. Tratamiento concomitante con hidroxicloroquina

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que con la ciclofosfamida para el análisis de los pacientes tratados con y sin hidroxicloroquina concomitante. Como se observa en la tabla 21, aquellos pacientes que recibían concomitantemente hidroxicloroquina, en el momento basal, mostraron menos criterios acumulados ACR e índices SDI más bajos. Sin embargo, tenían índices SELENA-SLEDAI más altos, sobre todo actividad del lupus a nivel cutáneo (33,9% vs. 16,7%; $p = 0,002$) y un mayor número de criterios SFI leve-moderados en el momento basal.

El análisis multivariante reveló que el cotratamiento con hidroxicloroquina no se asoció con mejores respuestas clínicas tras el tratamiento con rituximab.

Tabla 21. Diferencias basales entre los pacientes con lupus tratados con y sin hidroxicloroquina concomitante

Variable	Con HCQ	Sin HCQ	Valor p
Nº criterios ACR, media \pm DE	1,8 \pm 1,2	2,2 \pm 1,4	0,046*
Índice SDI (0-49), media \pm DE	1,3 \pm 1,8	2,0 \pm 2,1	0,046
SELENA-SLEDAI (0-105), media \pm DE	16,7 \pm 10,5	12,3 \pm 8,4	0,008*
Nº de criterios SFI leve-moderados, media \pm DE	1,5 \pm 0,9	1,2 \pm 0,9	0,030*

DE: desviación estándar; SDI: *Systemic lupus international collaborating clinics American College of Rheumatology damage index*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment*-Índice de actividad del LES; SFI: *SELENA-SLEDAI Flare Index*; *Mann-Whitney U test

1.8.3. Análisis de otras variables en relación con la efectividad

Se realizó un análisis de regresión logística univariante y multivariante para analizar las posibles variables que pudieran estar en relación con la efectividad del tratamiento tanto a los 6 meses del primer curso de rituximab como al final del seguimiento.

Para el análisis multivariante a los 6 meses del tratamiento se incluyeron en el modelo las siguientes variables independientes: el tratamiento previo con inmunoglobulinas y con altas dosis de corticosteroides, los antecedentes de rash discoide, trastorno hematológico grave y el índice SELENA-SLEDAI.

Como se muestra en la tabla 22, cada punto añadido en el índice SELENA-SLEDAI se asoció con un 10% de mayor probabilidad de respuesta, es decir que cuanto más activa era la enfermedad mayor probabilidad tenía de respuesta al tratamiento. Por otro lado, las mayores tasas de respuesta se observaron entre los pacientes que habían recibido en algún momento dosis mayores de 100mg/día de corticosteroides, mientras que los pacientes que previamente habían tenido un trastorno hematológico grave tenían un 83% menos de probabilidad de alcanzar una buena respuesta tras el tratamiento.

Tabla 22. Análisis de regresión logística uni- y multivariante tras 6 ± 3 meses del primer curso. Muestra por protocolo (n= 116)

Variable dependiente: respuesta parcial o completa

Variables independientes	Univariante		Multivariante	
	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)
Tratamiento previo con inmunoglobulinas	0,007	0,3 (0,1 – 0,7)	0,135	--
Tratamiento previo con prednisona ≥ 100 mg/día†	0,032	0,3 (1,1 – 15,0)	0,010	7,3 (1,6 – 32,9)
Rash discoide previo	0,025	4,4 (1,2 – 15,8)	0,082	--
Trastorno hematológico severo previo	0,003	0,3 (0,1 – 0,7)	<0,001	0,17 (0,06 – 0,46)
SELENA-SLEDAI basal (0-105)	0,001	1,1 (1,03 - 1,2)	0,001	1,1 (1,04 – 1,16)

Análisis por pasos hacia delante (razón de probabilidades); Nagelkerke's $R^2 = 0,318$

† Antecedentes de tratamiento con dosis diarias por encima de 100mg/día para controlar la actividad del lupus. Se refiere a la dosis más alta usada desde el diagnóstico del lupus.

SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment*-Índice de actividad del LES

Para el análisis de regresión logística multivariante al final del seguimiento se incluyeron las siguientes variables independientes en el modelo: el tratamiento previo con inmunoglobulinas, el índice SLEDAI, el tratamiento concomitante con prednisolona más bolos de ciclofosfamida y el tratamiento concomitante con otros inmunosupresores que no fueran ciclofosfamida.

Al igual que se observó en el análisis a las 24 semanas, la mayor actividad del lupus (mayor índice SELENA-SLEDAI) se asoció con una mayor probabilidad de respuesta al rituximab. Por el contrario, se observó que el tratamiento previo con

inmunoglobulinas y el tratamiento concomitante con prednisolona más bolos de ciclofosfamida se asociaron con menor probabilidad de respuesta. Por último, el cotratamiento con otro inmunosupresor distinto de la ciclofosfamida se asoció con una probabilidad 3,5 veces mayor de alcanzar respuesta al final del seguimiento.

1.9. Perfil de seguridad del rituximab a lo largo del seguimiento

Para el análisis de seguridad se utilizó la muestra por intención de tratar (n=131), definida como todos los pacientes que recibieron al menos una infusión de rituximab (tuvieran o no el seguimiento posterior requerido para el análisis de efectividad).

De estos 131 pacientes, 51 (38,9%) sufrieron algún tipo de evento adverso, detectándose un total de 90 eventos adversos. Como se puede apreciar en la tabla 23, casi la mitad de ellos fueron de tipo grave. En 72 casos (84,7%) precisaron algún tipo de tratamiento. Treinta y ocho pacientes (44,7%) requirieron ingreso hospitalario y 13 de ellos (15,2%) estancia en unidades de cuidados intensivos.

El tipo de evento adverso más frecuente fueron las infecciones (22,0/100 pacientes-año) seguidas de las reacciones infusionales (9,3/100 pacientes-año). Mientras que la mayoría de las infecciones fueron graves, las reacciones infusionales fueron en su mayor parte leves o moderadas. En cuanto al resto de eventos adversos muchos no se pudieron relacionar directamente con el tratamiento (tabla 24).

Tabla 23. Eventos adversos observados durante el tratamiento con rituximab (n=131, muestra por intención de tratar). Tiempo en riesgo (pacientes-año) = 213,46

Tipo de evento adverso	Nº pacientes n (%)	Nº eventos	Incidencia/100 pacientes-año (todos eventos/pacientes)
Eventos adversos totales	51 (38,9)	90	42,2
Leve/moderados	25 (19,1)	47	22,0
Graves*	26 (19,8)	43	20,1
Fatales	6 (4,5)	6	2,8
Infecciones	27 (20,6)	47	22,0
Leve/moderadas	10 (7,6)	20	9,4
Severas	17 (13,0)	27†	12,6
Fatales	2 (1,5)	2‡	0,9
Reacciones infusionales	15 (11,4)	20	9,3
Leve/moderadas	10 (7,6)	14	6,5
Graves	5 (3,8)	6§	2,8

* Eventos fatales incluidos. † 14 sepsis. ‡ 1 sepsis. § 1 reacción anafiláctica

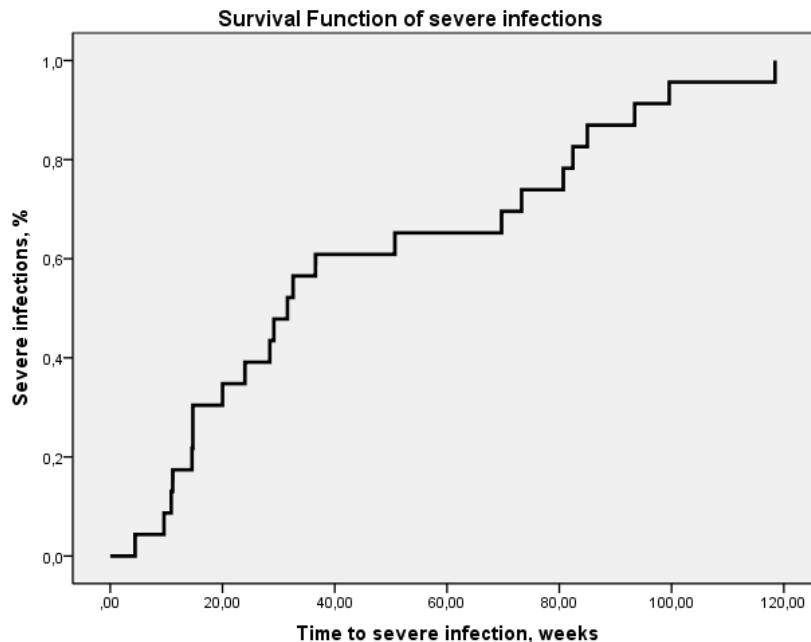
La incidencia de infecciones graves fue mayor en fases tempranas del estudio (antes de la semana 40), aunque también se observó un repunte de las mismas más adelante en el seguimiento (tras la semana 80) (figura 12). Las infecciones más frecuentes fueron las del tracto respiratorio (3,7/100 pacientes-año), incluyendo neumonías (2,8/100 pacientes-año), seguidas de las infecciones por herpes-zoster (3,2/100 pacientes-año) y las infecciones del tracto urinario (2,3/100 pacientes-año), incluyendo pielonefritis (1,4/100 pacientes-año).

Tabla 24. Eventos adversos (distintos de las infecciones y las reacciones infusionales) observados durante el tratamiento con rituximab (n=131, muestra por intención de tratar). Tiempo en riesgo (pacientes-año) = 213,46

Tipo de evento adverso	Nº pacientes	Nº eventos	Incidencia/100 pacientes-año (todos eventos/pacientes)
Displasia cervical	1	1	0,5
Cistitis hemorrágica	1	1	0,5
Empeoramiento de la enfermedad	1	1	0,5
Artralgias	1	1	0,5
Embarazo	1	1	0,5
Trombocitopenia	1	1	0,5
Diarrea	1	1	0,5
Convulsiones	1	1	0,5
Pirexia	1	1	0,5
Vómitos	1	1	0,5
Cáncer de pecho	1	1	0,5
Hemorragia pulmonar	1	1	0,5
Hipertensión pulmonar	1	1	0,5
Edemas	1	1	0,5
Mononeuritis múltiple	1	1	0,5
Lupus eritematoso cutáneo	1	1	0,5
Sd. Distress respiratorio del adulto	1	1	0,5
Náuseas	1	1	0,5
Ansiedad	1	1	0,5
Desmielinización	1	1	0,5
Cefalea	1	1	0,5
Isquemia periférica	1	1	0,5
Fracaso cardíaco	1	1	0,5

De los 47 casos de infecciones, 27 requirieron tratamiento antibiótico intravenoso. Se logró identificar el microorganismo responsable en 26 de los casos. En 9 de ellos se aislaron bacterias gran negativas (*E. coli*: 7 casos; *P. aeruginosa*: 1 caso, *K. pneumoniae*: 1 caso), y en 5 casos bacterias gran positivas (*Staphylococcus*: 3 casos, *L. monocytogenes*: 1 caso; *Streptococcus*: 1 caso). De los restantes, 10 fueron de etiología vírica (virus herpes zoster: 6 casos; HHV-1: 2 casos; HPV: 2 casos) y 2 de etiología fúngica (*Candidasp* y *Aspergillus*).

Figura 12. Tiempo transcurrido desde la infusión de rituximab hasta presentar una infección grave.



En el total del seguimiento se produjeron 6 fallecimientos. Dos de los cuales fueron secundarios a una causa infecciosa (síndrome de activación macrofágica en el contexto de una aspergilosis invasiva y un caso de gangrena). Los otros 4 pacientes fallecieron por causas secundarias a la actividad del LES (brote de actividad multiorgánica; hemorragia alveolar aguda; hipertensión pulmonar; síndrome de distress respiratorio agudo).

1.10. Factores relacionados con los eventos adversos

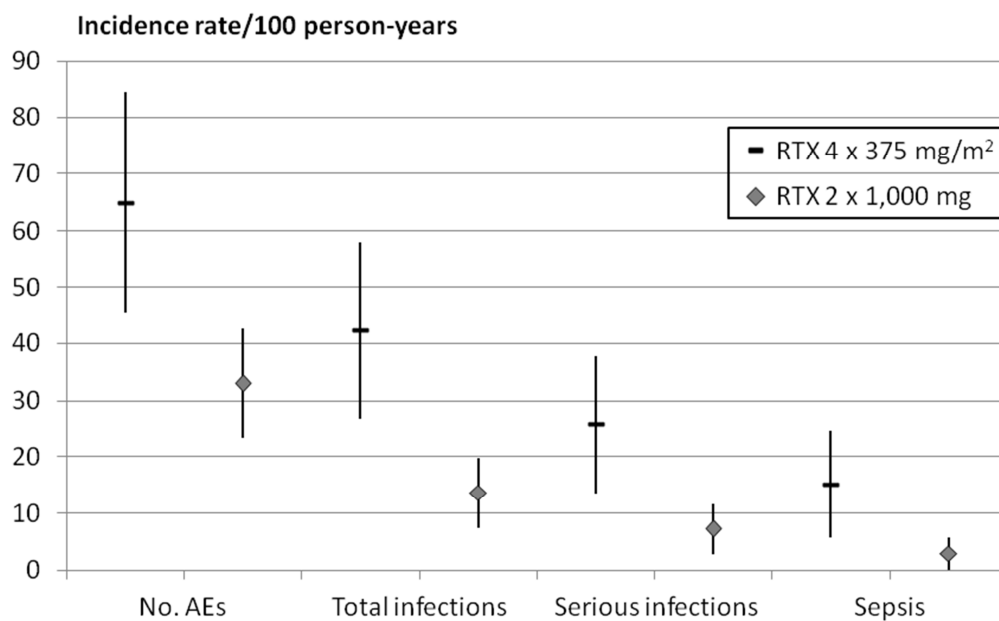
1.10.1. Seguridad en relación con la pauta de administración de rituximab

Una de las variables que se analizaron en relación con los eventos adversos graves fue la pauta de administración de rituximab, comparando la administración de 4 dosis semanales de $375\text{mg}/\text{m}^2$ de rituximab frente a la pauta más utilizada de 2 dosis de 1g separadas por 14 días. La pauta de $375\text{ mg}/\text{m}^2$ se relacionó con mayores tasas de eventos adversos en general, en comparación con las 2 dosis de 1g (figura 13). De hecho en relación con esa posología se observaron mayores tasas de eventos adversos totales: $64,9/100$ personas-año (razón de tasas de incidencia 1,8; 95% IC

1,3-3,0; $p=0,002$) y de infecciones totales: 42,3/100 pacientes-año (razón de tasas de incidencia 3,1; 95%IC 1,7-5,9; $p<0,001$). Así mismo, esta pauta se relacionó con mayores tasas de infecciones serias: 25,7/100 pacientes-año (razón de tasas de incidencia 3,6; 95% IC 1,5-8,7; $p=0,001$), de sepsis: 15,1/100 pacientes-año; 95% IC 1,5-23,0; $p=0,003$) y de infecciones que requirieron tratamiento en unidades de cuidados intensivos: 7,5/100 pacientes-año (razón de tasas de incidencia 5,3; 95% IC 1,2-498; $p=0,016$).

Figura 13. Incidencia de eventos adversos totales, infecciones totales, infecciones severas y sepsis en relación con la pauta de administración de rituximab.

Tasa de incidencia puntual/100 pacientes-año de 2 dosis de 1.000 mg de rituximab separadas por 14 días vs 4 dosis semanales de 375mg/m² de rituximab (95% intervalo de confianza).



No. AES: *number of adverse events*

1.10.2. Seguridad en relación con las características basales de la muestra

Aparte de la pauta de administración del rituximab se analizaron otros posibles factores de riesgo basales que pudieran estar relacionados con el desarrollo de eventos adversos graves (tabla 25), infecciones graves (tabla 26) y mortalidad (tabla 27). Para ello se empleó la muestra por protocolo (n=125) en vez de la muestra por intención de tratar (n=131), ya que se necesitaban datos suficientes de la última visita.

Como se puede observar en la tabla 25, en el análisis multivariante de los factores relacionados con los eventos adversos graves, se incluyeron como variables independientes el índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad, el tratamiento previo con bolos de corticosteroides, el índice de brote leve-moderado basal y la albúmina sérica. En el análisis multivariante mostró como factores de riesgo independientes de desarrollo de cualquier tipo de evento adverso grave al índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad y al tratamiento previo con bolos de prednisona.

Tabla 25. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab. Pacientes tratados con al menos 1 infusión de rituximab con un seguimiento de >10 semanas (n= 125).

Variable dependiente: eventos adversos graves.

Variables independientes	Univariante		Multivariante	
	p-valor	HR (95% IC)	p-valor	HR (95% IC)
I. comorb. Charlson ajustado edad	0,030	1,6 (1,1-2,4)	0,049	1,6 (1,0-2,6)
Bolos esteroides previos	0,001	5,4 (2,0-14,8)	0,002	5,9 (1,9-18,4)
Brote leve-moderado basal	0,047	0,3 (0,1-0,9)	0,356	--
Albúmina sérica, g/dL	0,047	0,4 (0,2-0,9)	0,159	--

Análisis por pasos hacia delante (razón de probabilidades); Nagelkerke's R^2 0,188

HR: hazard ratio

De entre todas las variables independientes que se incluyeron en el análisis multivariante en relación con el riesgo de desarrollo de infección severa, sólo se

identificaron como factores de riesgo independientes el número de órganos y sistemas afectados de forma grave, el recuento basal de leucocitos y la pauta de 4 dosis semanales de rituximab (tabla 26).

Tabla 26. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab. Pacientes tratados con al menos 1 infusión de rituximab con un seguimiento de >10 semanas (n= 125).

Variable dependiente: infección severa.

Variables independientes	Univariante		Multivariante	
	p-valor	HR (95% IC)	p-valor	HR (95% IC)
I. comorb. Charlson ajustado edad	0,002	1,7 (1,2-2,4)	0,772	--
Nºórganos severamente afectos	<0,001	2,0 (1,4-2,9)	0,001	2,0 (1,3-2,9)
Recuento basal leucocitos, $\times 10^9/L$	0,045	1,2 (1,0-1,3)	0,046	1,2 (1,0-1,4)
Albúmina sérica basal, g/dL	0,005	0,3 (0,2-0,7)	0,509	--
Niveles séricos C4 basales, mg/dL	0,034	0,8 (0,8-0,9)	0,102	--
SDI (0-49)	0,017	1,3 (1,1-1,6)	0,937	--
Nº de criterios SFI severos	0,019	1,6 (1,1-2,4)	0,856	--
Pauta de rituximab				
2 dosis de 1g		Referencia		
4 dosis de 375mg/m ²	0,008	3,9(1,4-10,7)	0,014	5,0 (1,4-18,3)
Otras dosis	0,999	--	0,999	--

Análisis por pasos hacia delante (razón de probabilidades); Nagelkerke's R^2 0,401

C4: niveles de complemento C4; HR: hazard ratio; SDI: *Systemic lupus international collaborating clinics American College of Rheumatology damage index*; SFI: *SELENA-SLEDAI Flare Index*;

Por último, como se puede deducir de la tabla 27, la mortalidad se asoció con el índice SDI, el número de criterios graves SFI y el tratamiento concomitante con prednisona más bolos de ciclofosfamida. El índice SELENA-SLEDAI o la pauta de administración de rituximab no se identificaron como factores independientes de riesgo de mortalidad.

Tabla 27. Análisis de regresión logística uni y multivariante de los pacientes con LES en tratamiento con rituximab. Pacientes tratados con al menos 1 infusión de rituximab con un seguimiento de >10 semanas (n= 125).

Variable dependiente: mortalidad.

Variables independientes	Univariante		Multivariante	
	p-valor	HR (95% IC)	p-valor	HR (95% IC)
Nº de sistemas afectos graves	0,002	2,1 (1,3-3,4)	0,519	--
Tto. previo inmunoglobulinas	0,021	7,9 (1,4-45,7)	0,088	
Albúmina sérica basal, g/dL	0,033	0,3 (0,1-0,9)	0,618	--
SDI (0-49)	0,001	1,6 (1,2-2,2)	0,026	2,4 (1,1-5,2)
Nº de criterios SFI severos	0,002	3,7 (1,6-8,6)	0,054	5,4 (0,9-30,6)
SELENA-SLEDAI basal	0,043	1,1 (1,0-1,1)	0,345	--
Pauta de rituximab				
2 dosis de 1g		Referencia		
4 dosis de 375mg/m ²	0,021	7,9 (1,4-45,8)	0,289	--
Otras dosis	0,999	--	0,889	--
Tto. Bolos ciclofosfamida	0,035	6,6 (1,1-37,6)	0,160	--
Prednisolona + bolos de ciclofosfamida	0,002	16,7 (2,8-98,4)	0,042	22,3 (1,1-447,7)

Análisis por pasos hacia delante (Razón de probabilidades; Nagelkerke's R² 0,678)

HR: hazard ratio; SDI: *Systemic lupus internationalcollaboratingclinics American College of Rheumatologydamageindex*; SFI: *SELENA-SLEDAI FlareIndex*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus NationalAssessment*-Índice de actividad del LES

2. RESULTADOS DE LA SUBMUESTRA LIPÍDICA

2.1. Características basales

De los 131 pacientes de la cohorte LESIMAB, 52 no reunían todos los datos requeridos para el subanálisis, por lo que al final se seleccionaron 79 pacientes para la submuestra lipídica. Estos se siguieron durante una media de $98,7 \pm 67,8$ meses (media \pm DE), lo que representó un total de 149,28 pacientes-año. Las características de los pacientes seleccionados para este análisis fueron similares a las de los pacientes no seleccionados (tablas 28 y 29).

Tabla 28. Comparación entre las características basales de los pacientes excluidos y los incluidos para la submuestra lipídica.

Variabes	Pacientes excluidos (por falta de datos)	Pacientes incluidos	p-valor
Edad (años), media \pm DE	39,5 \pm 12,5	37,7 \pm 12,0	0,428
Duración del LES hasta el diagnóstico (años), media \pm DE	8,5 \pm 6,9	4,9 \pm 2,5-9,9	0,209
Índice comorbilidad Charlson ajustado edad, media (p25-p75)	2,0 (1-4)	2,0 (1-3)	0,328
Nº de comorbilidades, media (p25-p75)	0,5 (0-1)	0 (0-2)	0,295
Nº de criterios ACR, media \pm DE	6,4 \pm 1,74	7,0 (6-8)*	0,454
Nº fármacos recibidos previamente, media \pm DE	5 (4-6)*	5,36 \pm 1,74	0,787
Niveles séricos C3 (mg/dL), media \pm DE	71,51 \pm 26,6	74,96 \pm 33,4	0,551
Niveles séricos C4 (mg/dL), media \pm DE	11,8 \pm 6,7	10,70 (6-15)*	0,340
Proteinuria (g/día), media (p25-p75)	0,11 (0-1,5)	0,13 (0-2)	0,345
Dosis equivalente de prednisona (mg/día), media \pm DE	30,2 \pm 21,36	20(10-40)*	0,265
SELENA-SLEDAI, media \pm DE	11,4 \pm 8,7	16,3 \pm 9,7	0,004
SLICC, media (p25-p75)	1 (0-3)	1,0 (0-2)	0,833
Nº signos leve-moderado SFI, media (p25-p75)	1 (0-1)	1 (0-2)	0,371
Nº signos graves SFI, media (p25-p75)	1(0-1)	1(0-1)	0,633
Nº criterios leve-moderado SFI, media (p25-p75)	1 (1-2)	1 (1-2)	0,384
Nº criterios de grave SFI, media \pm DE	2,1 \pm 1,24	2 (1-3)*	0,796
HAQ, n (%)	19 (40)	40 (50)	0,113

*media (p25-p75); C3: fracción del complemento; C4: fracción del complemento; DE: desviación estándar; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; LES: lupus eritematoso sistémico; SFI: *SELENA-SLEDAI FlareIndex*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus NationalAssessment*-Índice de actividad del LES; SLICC: *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR damage index* (SLICC/ACR Damage Index: SDI)

Tabla 29. Comparación entre las características lipídicas basales de los pacientes excluidos y los incluidos para la submuestra lipídica.

Variables	Pacientes excluidos (por falta de datos) APTO=0	Pacientes incluidos APTO=1	p-valor
IMC(kg/m ²), media ± DE	23,9 ± 4,3	24,9 (21,9-27,6)	0,056
Nº de factores de riesgo cardiovascular clásicos, media (p25- p75)	1,0 (0-2)	1,0 (0-2)	0,752
Estatinas, n (%)	7 (20)	16 (20)	0,518
CT (mg/dl), media ± DE	190,1 ± 61,7	200,1 ± 47,9	0,336
HDL (mg/dl), media ± DE	57,0 ± 32,9	61,8 ± 23,3	0,592
CT/HDL, (VN < 4,5-5), media ± DE	4,2 ± 1,6	3,6 ± 1,5	0,277
LDL (mg/dl), media ± DE	113,1 ± 37,92	102,6 ± 43,7	0,520
TG (mg/dl), media ± DE	176,5 ± 88,6	146,84 ± 64,9	0,114
VLDL (mg/dl), media ± DE	35,3 ± 17,72	29,4 ± 12,9	0,114

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; HDL: colesterol ligado al HDL; LDL: colesterol ligado al LDL; cociente CT/HDL: cociente entre el colesterol total y el colesterol ligado al HDL; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal

Como se puede ver en la tabla 30, al igual que los pacientes de la cohorte completa de LESIMAB la mayoría de los lupus estudiados eran mujeres caucásicas menores de 40 años, con una enfermedad grave según el número de criterios ACR acumulados, que habían fracasado a numerosos tratamientos y que habían sufrido complicaciones en al menos 2 órganos importantes. El tiempo medio de duración de la enfermedad hasta el inicio del rituximab fue relativamente corto. La mayoría mostraban un bajo grado de comorbilidad aunque cabe destacar que un 25% ya tenía un índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad ≥ 3 . El SELENA-SLEDAI medio era de 16 y el índice de daño acumulado SDI de 1.

Tabla 30. Características basales de la submuestra lipídica (n=79)

Variables	Pacientes
Edad (años), media \pm DE	37,8 \pm 12,0
Sexo: femenino, n (%)	74 (93,7)
Raza: caucásica, n (%)	70 (88,6)
Índice comorbilidad Charlson ajustado edad, media (p25-p75)	2 (1-3)
Duración enfermedad (años), media (p25-p75)	4,8 (2,5-9,9)
Nº de criterios LES, media (p25-p75)	6 (5-8)
Proteinuria (g/día), media (p25-p75)	0,125 (0-2)
Sd. Nefrótico, n (%)	9 (11,4)
Nº órganos-sistemas afectados, media (p25-p75)	2 (1-2)
Nº fármacos recibidos previamente, media \pm DE	5,4 \pm 1,7
SELENA-SLEDAI basal, media \pm DE	16,3 \pm 9,7
Índice SDI, media (p25-p75)	1 (0-2)

DE: desviación estándar; Sd: síndrome; SDI: *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*;

En cuanto al perfil cardiovascular basal, los pacientes mostraban como media un índice de riesgo Framingham bajo aunque la mayoría de ellos presentaban al menos 1 factor de riesgo cardiovascular clásico. Los más comunes fueron la dislipemia, la hipertensión arterial y el consumo de tabaco. Un 11% eran obesos y un 40% tenían algún antecedente de dislipemia. El índice de masa corporal medio fue de 25 (tabla 31).

Tabla 31. Perfil cardiovascular clásico basal de la submuestra lipídica (n=79)

Variables	Pacientes
Nº de factores de riesgo cardiovascular clásicos, media (p25-p75)	1 (0-2)
IMC, media (p25-p75)	25,0 (21,9-27,5)
IMC \geq 30, n (%)	9 (11,4)
Dislipemia previa, n (%)	32 (40,5)
Fumador activo o previo, n (%)	21 (26,6)
TA \geq 140/90, n (%)	32 (40,5)
Diabetes mellitus, n (%)	6 (7,6)
Índice de riesgo de Framingham (%), media (p25-p75)	2 (1-6)

IMC: índice de masa corporal; TA: tensión arterial

2.2. Actividad basal e indicaciones del tratamiento

Al igual que en la cohorte completa de LESIMAB, la mayoría de los 79 pacientes de

la submuestra lipídica tenían un grado severo de enfermedad medido por el índice SELENA-SLEDAI, a pesar de haber recibido o estar recibiendo tratamiento previo con glucocorticoides, hidroxiclороquina e inmunosupresores. De hecho, la mayoría de ellos habían desarrollado algún tipo de daño irreversible secundario a la enfermedad.

Se reportaron 38 pacientes (48,1%) que padecían o habían padecido en algún momento nefritis lúpica, de los cuales se disponía de biopsia renal en 30 de los casos. Los subtipos que se encontraron fueron: nefritis tipo II (n=3), nefritis tipo III (n=7), nefritis tipo IV (n=17), nefritis tipo V (n=2) y nefritis tipo V-c (n=1).

En cuanto a las indicaciones primarias de rituximab fueron similares a las de la cohorte completa de LESIMAB: nefritis (n=25; 32%), artritis (n=15; 19%), afectación hematológica (n=14; 18%), neurolupus (n=19; 11%), afectación cutánea (n=6; 8%) y afectación de otros órganos/sistemas (n=10, 13%).

Así mismo el porcentaje de número de cursos recibidos de rituximab en la submuestra lipídica fue similar a la cohorte completa de LESIMAB.

Como se ha citado anteriormente, a 25 pacientes se les indicó el tratamiento con rituximab por nefritis refractaria. A estos 25 pacientes hay que añadir otros 4 adicionales que también padecían nefritis lúpica en el momento basal del estudio sin que supusiera la indicación primaria del tratamiento. Por tanto, en total sumaban 29 pacientes (36,7%) que tenían nefritis lúpica al inicio, con una proteinuria media de 3,297 (2,854) g/día en el momento basal. La proteinuria de los 25 pacientes que padecían nefritis lúpica refractaria fue de $3,67 \pm 2,87$ g/día (media \pm DE), siendo mayor de 3,5 g/día en 9 de los casos. Es más, 31 pacientes (39,2%) tenían una proteinuria basal por encima de 500 mg/día (3.244 ± 2.739 mg/día, media \pm DE) debido a nefropatía activa o a proteinuria residual.

2.3. Efectividad a las 24 semanas y al final del seguimiento

Al igual que se observó en el análisis de efectividad de la cohorte completa de 128 pacientes, tras el primer curso de rituximab la actividad de la enfermedad de la

submuestra lipídica pasó de grave a leve en la mayoría de los pacientes y se mantuvo como inactiva o levemente activa durante el periodo de seguimiento (tabla 32). Así mismo las variables de laboratorio mejoraron a lo largo del seguimiento (proteinuria, niveles de complemento, títulos de anti-dsDNA, etc).

En la tabla 32 se puede observar la frecuencia de uso de tratamiento concomitante con hidroxicloroquina y corticoides así como la dosis empleada. Paralelamente a la mejoría en la actividad de la enfermedad, casi el 13% de los pacientes consiguió suspender por completo los corticoides durante el seguimiento mientras que el resto redujo la dosis requerida en un modo significativo. Por el contrario, el uso y la dosis de hidroxicloroquina no cambiaron significativamente.

Un punto a destacar es que, a pesar de la alta frecuencia de dislipemia en el momento basal del estudio, tan solo un 20% de los pacientes recibían estatinas (simvastatina o atorvastatina) al inicio del estudio y su uso tan solo se incrementó en un 6% en las primeras 24 semanas del estudio.

Tabla 32. Evolución de las variables clínicas y del tratamiento concomitante durante el seguimiento de la submuestra lipídica (n=79)

Variables	Basal	24 semanas	Final del seguimiento
Seguimiento (semanas), media \pm DE		26,4 \pm 4,4	98,7 \pm 67,8
SELENA-SLEDAI, media (p25-p75)	16 (9-23)	4 (2-8) ‡ ‡	2 (0-6) ‡ ‡
SDI, media (p25-p75)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)
Tratamientos concomitantes:			
Esteroides, n (%)	79 (100)	77 (97,5)	69 (87,3)**
Dosis equivalente de prednisona (mg/día), media (p25-p75)	20 (10-40)	10 (5-15) ‡ ‡	5 (5-10) ‡ ‡
Hidroxicloroquina, n (%)	40 (50,6)	37 (46,8)	41 (51,9)
Dosis hidroxicloroquina (mg/día)	300 (200-400)	400 (200-400)	200 (200-400)
Media (p25-p75)			
Inhibidores de HMG-CoA, n (%)	16 (20,3)	21 (26,6)	20 (25,3)

**p = 0,002 (test de McNemar); ‡ ‡p <0,001 (test de Wilcoxon)

SDI: *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus*; SELENA-SLEDAI: *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*; Inhibidores HMG-CoA: inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A

2.4. Parámetros lipídicos basales

Como se puede observar en la tabla 33, antes de iniciar tratamiento con rituximab las medias de los parámetros lipídicos básicos de la muestra como conjunto se encontraban dentro de los rangos de normalidad. Sin embargo, analizando paciente por paciente un 68,7% de ellos tenían uno o más parámetros lipídicos fuera del rango recomendado por el *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP-III) (336), [CT < 240 mg/dl, LDL ≤ 100 mg/dl, HDL ≥ 50 mg/dl y TG ≤ 200 mg/dl]. Los parámetros más frecuentemente alterados fueron los niveles de LDL (alterados en 34% de los pacientes) y de HDL (alterados en 27% de los pacientes), seguido de las cifras de CT y TG (alterados en un 18% de los pacientes en ambos casos).

Tabla 33. Parámetros lipídicos basales de la submuestra (n=79)

Variables	Media ± DE
CT (mg/dl)	200,1 ± 47,9
TG (mg/dl)	146,8 ± 64,9
HDL (mg/dl)	61,7 ± 23,3
LDL (mg/dl)	102,6 ± 46,6
Cociente CT/HDL	3,5 ± 1,5
Índice aterogénico	0,017 ± 0,257

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; HDL: colesterol ligado al HDL; LDL: colesterol ligado al LDL; cociente CT/HDL: cociente entre el colesterol total y el colesterol ligado al HDL

Por último, el análisis de correlación bivalente reveló una correlación positiva entre los niveles basales de CT y LDL con el grado de proteinuria. Los niveles de TG se correlacionaron sin embargo con el SELENA-SLEDAI. Así mismo, se encontró una correlación directa entre el cociente CT/HDL y el daño acumulado por el lupus medido por SDI y la dosis basal de prednisona. Por el contrario, no se observó correlación entre la dosis basal de prednisona y el resto de parámetros lipídicos.

2.5. Variaciones lipídicas tras el tratamiento con rituximab

En la tabla 34 se pueden observar los cambios que se objetivaron en los parámetros lipídicos a las 24 semanas del primer curso de rituximab y al final del seguimiento (tras 1 o varios cursos de tratamiento). Los niveles de TG descendieron en

aproximadamente un 12% ($p=0,016$). Los niveles de CT y LDL también disminuyeron (sobre un 5,5% y un 9% respectivamente) aunque estos resultados no alcanzaron significación estadística. La reducción del índice aterogénico fue mayor en las primeras 24 semanas ($p=0,034$). Sin embargo, los niveles de HDL y el índice CT/HDL se mantuvieron estables a lo largo del seguimiento.

Tabla 34. Evolución de las variables lipídicas durante el seguimiento de la submuestra (n=79)

Variabes	Basal	24 semanas	Final del seguimiento
CT (mg/dl), media \pm DE	200,1 \pm 47,9	196,0 \pm 41,8	189,1 \pm 45,2*
TG (mg/dl), media \pm DE	146,8 \pm 64,9	137,3 \pm 71,0	128,8 \pm 53,2†
HDL (mg/dl), media \pm DE	61,7 \pm 23,3	63,2 \pm 23,6	61,4 \pm 26,3
LDL (mg/dl), media \pm DE	102,6 \pm 46,6	94,4 \pm 41,4	93,4 \pm 39,3
Cociente CT/HDL, media \pm DE	3,5 \pm 1,5	3,4 \pm 1,5	3,4 \pm 1,4
Índice aterogénico, media \pm DE	0,017 \pm 0,257	-0,033 \pm 0,270‡	-0,036 \pm 0,147§

* $p = 0,059$; † $p = 0,016$; ‡ $p = 0,034$; § $p = 0,088$;

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; HDL: colesterol ligado al HDL; LDL: colesterol ligado al LDL; cociente CT/HDL: cociente entre el colesterol total y el colesterol ligado al HDL

2.6. Factores en relación con los cambios lipídicos

Se realizó un análisis de correlaciones bivariantes entre el los cambios en el índice de actividad del lupus y el grado de proteinuria que se produjeron a las 24 semanas (tabla 35) y al final del seguimiento (tabla 36) con los cambios que se objetivaron paralelamente en los parámetros lipídicos.

Como se puede observar en la tabla 35, a las 24 semanas del primer curso de rituximab, la mejoría observada en la actividad del lupus (Delta-SLEDAI) se correlacionó directamente con la mejoría de los niveles de TG y CT con respecto al momento basal (Delta-TG y Delta-CT). Es más, esta correlación positiva se mantuvo durante el seguimiento (tabla 36). De la misma manera se observó una correlación positiva entre la mejoría de los niveles de proteinuria y los cambios observados en los niveles de CT, C-LDL y el cociente CT/HDL a las 24 semanas. Esta correlación no se observó sin embargo con los niveles de TG. Al final del seguimiento estas correlaciones se mantuvieron sólo en el caso del CT y el cociente CT/HDL.

Tabla 35. Análisis lineal de correlaciones bivariantes entre las variables relacionadas con la actividad del lupus y las variables lipídicas a la semana 24 del primer curso

Tras primer ciclo de Rituximab*	Variables del lupus	
Variables lipídicas	Delta-SLEDAI (24s)	Delta proteinuria (24s)
Delta-TG (24s)	r=0,366 p=0,001	n.s
Delta-CT (24s)	r=0,345 p=0,002	rho=0,349 p=0,005
Delta-LDL (24s)	n.s	rho=0,447 p=0,003
Delta-HDL (24s)	n.s	rho=0,245 p=0,096
Delta-cociente CT/HDL (24s)	rho=0,231 p=0,095	rho=0,353 p=0,020

* Media \pm DE, 26,4 \pm 4,4semanas

(24s): a las 24 semanas del primer curso; Delta-SLEDAI (24s): diferencias entre el SLEDAI basal y a las 24 semanas; Delta-proteinuria (24s): diferencias entre la proteinuria basal y a las 24 semanas; Delta-TG (24s): diferencias entre los triglicéridos basales y a las 24 semanas; Delta-CT (24s): diferencias entre el colesterol total basal y a las 24 semanas; Delta-LDL (24s): diferencias entre el colesterol ligado al LDL basal y a las 24 semanas; Delta-HDL (24s): diferencias entre el colesterol ligado al HDL basal y a las 24 semanas; Delta-cociente CT/HDL (24s): diferencias entre la el cociente CT/HDL basal y a las 24 semanas; n.s: no significativo; 24s: a las 24 semanas del primer ciclo de rituximab

Tabla 36. Análisis lineal de correlaciones bivariantes entre las variables relacionadas con la actividad del lupus y las variables lipídicas al final del seguimiento

Final del seguimiento*	Variables del lupus	
Variables lipídicas	Delta-SLEDAI (seguimiento)	Delta-proteinuria(seguimiento)
Delta-TG (Fs)	rho=0,254 p=0,028	n.s
Delta-CT (Fs)	rho=0,289 p=0,011	rho=0,344 p=0,004
Delta-LDL (Fs)	n.s	n.s
Delta-cociente CT/HDL (Fs)	n.s	rho=0,316 p=0,034

* Media \pm DE, 98,7 \pm 67,8semanas; (Fs): al final del seguimiento; Delta-SLEDAI (Fs): diferencias entre el SLEDAI basal y en la última visita; Delta-proteinuria (Fs): diferencias entre la proteinuria basal y en la última visita; Delta-TG (Fs): diferencias entre los TG basales y en la última visita; Delta-CT (Fs): diferencias entre el colesterol total basal y en la última visita; Delta-LDL (Fs): diferencias entre el colesterol ligado al LDL basal y en la última visita; Delta-cociente CT/HDL (Fs): diferencias entre el cociente CT/HDL basal y en la última visita; n.s: no significativo

Por último se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para analizar los posibles factores relacionados con los cambios lipídicos tanto a las 24 semanas del tratamiento (tabla 37) como al final del seguimiento (tabla 38). Para ello se introdujeron como variables dependientes las variaciones en los distintos parámetros lipídicos (Delta-lipídicas) y como variables independientes o explicativas las siguientes variables: cambios en la actividad del lupus (Delta-SLEDAI), variaciones en las cifras de proteinuria (Delta-proteinuria), cambios en la dosis de esteroides requerida (Delta-prednisona) y la presencia o ausencia de tratamiento concomitante con estatinas e hidroxicloroquina. Se construyeron 2 modelos. En el modelo 1 no se consideraron los cambios en la proteinuria mientras que en el modelo 2 sí se añadieron a la lista de posibles variables explicativas.

Los resultados del modelo 1 mostraron que la única variable independiente que explicaba la disminución de los niveles de TG y CT fue la mejoría en la actividad del lupus, tanto a corto (tabla 37) como a largo plazo (tabla 38). Solo se observó un leve efecto en la reducción del CT al final del seguimiento cuando se introdujeron las estatinas en las primeras 24 semanas del tratamiento.

Sin embargo, el modelo 2 que consideró la proteinuria, resultó ser un modelo más sólido con unos valores más altos de R^2 , que venían a reflejar una mayor influencia global sobre el perfil lipídico. En este modelo se observó por tanto una correlación entre la mejoría de las cifras de proteinuria y los cambios en los niveles de LDL, HDL y el cociente CT/HDL al final del seguimiento (tabla 38). Al contrario de lo esperado, no se encontró una correlación positiva entre ahorro de corticoides y mejorías lipídicas.

Tabla 37. Modelos de análisis de regresión lineal múltiple a las 24 semanas del primer curso de rituximab.

Variables independientes-Modelo 1: Delta-SLEDAI; Delta-prednisona; Uso de hidroxycloroquina y estatinas. -**Modelo 2:** se añadió Delta-proteinuria.

Variables lipídicas (dependientes)	Variables lupus (independientes)	B	95% IC	β coeficiente Estandarizado	P
Delta-TG (24s)					
Modelo 1 ($R^2=0.134$)	Delta-SLEDAI (24s)	2.53	1.07, 3.99	0.366	0.001
Modelo 2 ($R^2=0.270$)	Delta-proteinuria (24s)	15.9	9.14, 22.64	0.519	<0.001
Delta-CT (24s)					
Modelo 1 ($R^2=0.119$)	Delta-SLEDAI (24s)	1.84	0.71, 2.98	0.345	0.002
Modelo 2 ($R^2=0.144$)	Delta-proteinuria (24s)	8.97	3.33, 14.61	0.380	0.002
Delta-LDL (24s)					
Modelo 1	Ninguno				
Modelo 2 ($R^2=0.150$)	Delta-proteinuria (24s)	9.25	2.32, 16.19	0.388	0.010
Delta-CT/HDL (24s)					
Modelo 1	Ninguno				
Modelo 2 ($R^2=0.234$)	Delta-proteinuria (24s)	0.37	0.16, 0.58	0.484	0.001

R^2 : Razón de probabilidades, Nagelkerke's; Análisis por pasos hacia delante

(24s): a las 24 semanas del primer curso de rituximab; Delta-SLEDAI (24s): diferencia entre el SLEDAI a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-proteinuria (24s): diferencia entre la proteinuria a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-TG (24s): diferencia entre los triglicéridos a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-TC (24s): diferencia entre el colesterol total a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-LDL (24s): diferencia entre el colesterol ligado a LDL a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-HDL (24s): diferencia entre el colesterol ligado a HDL a nivel basal y a las 24 semanas; Delta-CT/HDL ratio (24s): diferencia entre el ratio CT/HDL a nivel basal y a las 24 semanas.

Tabla 38. Modelos de análisis de regresión linear múltiple al final del seguimiento.

Variables independientes -**Modelo 1:** Delta-SLEDAI; Delta-prednisona; Uso de hidroxycloroquina y estatinas. - **Modelo 2:** se añadió Delta-proteinuria.

Variables lipídicas (dependientes)	Variables lupus (independientes)	B	95% IC	β -coeficiente Estandarizado	P
Delta-TG (Fs)					
Modelo 1 ($R^2=0.064$)	Delta-SLEDAI (Fo)	1.68	0.19, 3.17	0.254	0.028
Modelo 2 ($R^2=0.280$)	Delta-proteinuria (Fo)	14.3	8.63, 20.03	0.529	<0.001
Delta-CT (Fs)					
Modelo 1 ($R^2=0.131$)	Delta-SLEDAI (Fo)	1.30	0.09, 2.51	0.239	0.036
	HMG-CoAi(24s)*	26.78	0.09, 53.46	0.224	0.049
Modelo 2 ($R^2=0.190$)	Delta-proteinuria (Fo)	9.43	4.61, 14.24	0.430	<0.001
Delta-LDL (Fs)					
Modelo 1	Ninguno				
Modelo 2 ($R^2=0.174$)	Delta-proteinuria (Fo)	9.33	3.09, 15.58	0.418	0.004
Delta-CT/HDL (Fs)					
Modelo 1	Ninguno				
Modelo 2 ($R^2=0.145$)	Delta-proteinuria (Fo)	0.35	0.09, 0.60	0.381	0.010
Delta-HDL (Fs)					
Modelo 1	Ninguno				
Modelo 2 ($R^2=0.146$)	Delta-proteinuria (Fo)	-6.11	-10.66, -1.57	-0.382	0.010

R^2 : Razón de probabilidades, Nagelkerke's; Análisis por pasos hacia delante

*adición de estatinas a las 24 semanas ; (Fs): al final del seguimiento; Delta-SLEDAI (Fs): diferencia entre el SLEDAI a nivel basal y al final del seguimiento; Delta-proteinuria (Fs): diferencia entre la proteinuria a nivel basal y al final del seguimiento; Delta-TG (Fs): diferencia entre los triglicéridos a nivel basal y al final del seguimiento; Delta-TC (Fs): diferencia entre el colesterol total a nivel basal y al final del seguimiento; Delta-LDL (Fs): diferencia entre el colesterol ligado a LDL a nivel basal y al final del seguimiento; Delta-CT/HDL (Fs): diferencia entre el ratio CT/HDL a nivel basal y al final del seguimiento

DISCUSIÓN

VIII. DISCUSIÓN

1. ESTUDIO DE LA MUESTRA GENERAL

A pesar de que rituximab no es un fármaco oficialmente aprobado para el tratamiento del LES se sigue empleando con frecuencia en práctica clínica debido a que se han reportado buenos resultados en casos de enfermedad refractaria o intolerante a las terapias inmunosupresoras convencionales (44, 119, 126-128, 131, 133, 135, 136, 142, 143, 145, 149-152, 157, 335). Existen numerosos estudios no controlados que contrarrestan los resultados desfavorables de los dos ensayos clínicos principales diseñados para conseguir su indicación en el lupus, los estudios EXPLORER (149) y LUNAR (152). Sin embargo, todavía son necesarios más estudios acerca de su uso y seguridad en condiciones de práctica clínica. Nuestro estudio proporciona nuevos datos que apoyan la hipótesis de que el rituximab es una buena opción terapéutica para los pacientes con lupus grave que han fallado a los tratamientos inmunosupresores previos.

1.1. Tamaño muestral y características de la muestra

La cohorte de LESIMAB se caracterizó por tener un tamaño muestral grande para este tipo de estudios. A excepción de los ensayos clínicos EXPLORER (257 pacientes) y LUNAR (144 pacientes), nuestro estudio es uno de los de mayor tamaño descritos hasta ahora en este campo concreto de investigación. Tratándose de un estudio observacional, no se realizó un cálculo del tamaño muestral requerido porque se trataba de conseguir el mayor número posible de pacientes disponibles que reuniesen los requisitos necesarios para el estudio.

La mayoría de nuestros pacientes eran mujeres caucásicas jóvenes. El hecho de que tan sólo un 8% fueran hispanos o de otras etnias hace que nuestra muestra, aun siendo representativa de la población española, no se pueda equiparar a los estudios realizados en otros países donde existe una mayor prevalencia de individuos hispanos y afroamericanos, que como se sabe, tienden a desarrollar formas más agresivas de la enfermedad. En nuestra cohorte todos los pacientes seleccionados tenían un grado severo de enfermedad, habiendo fracasado a antimaláricos, glucocorticoides e inmunosupresores, lo que hacía que la muestra fuera representativa de severidad y refractariedad. A pesar de que la duración media de la enfermedad hasta el inicio del rituximab fue relativamente corta, nuestros pacientes ya tenían una media de 2 órganos afectados de forma grave al iniciar el estudio. Además, la mayoría de ellos tenían un grado de comorbilidad desproporcionado al ajustarlo por edad. Toda esta suma de factores confirmaba con mayor consistencia las formas agresivas de la enfermedad.

Es más, el perfil de severidad de nuestros pacientes era bastante similar al descrito en las series de casos previas. Sin embargo cabe destacar que los integrantes de nuestra muestra tenían un mayor grado de actividad que los pacientes de los ensayos clínicos EXPLORER (149) y LUNAR (152). De hecho en nuestro caso se incluyeron pacientes con enfermedad renal y afectación neurológica secundaria al lupus, manifestaciones que por el contrario fueron excluidas en los ensayos clínicos previamente citados (EXPLORER: pacientes sin afectación renal ni neurológica; LUNAR: enfermedad renal no necesariamente refractaria).

De hecho, otro punto a recalcar es que el riñón fue el órgano más prevalentemente afecto en nuestra muestra. Aproximadamente la mitad de los pacientes había padecido o padecía nefritis lúpica (sobre todo tipo IV y III) y la nefropatía refractaria supuso la principal indicación del tratamiento con rituximab. La proteinuria media basal de la muestra fue de 1,6 g/día. Por último, observamos también una prevalencia inusualmente elevada de síndrome antifosfolípido (casi en un 25% de los pacientes). Este hallazgo, al igual que el anterior, muy probablemente se debe al sesgo de selección que supuso indicar rituximab a pacientes con formas graves de lupus y refractarios a tratamiento estándar.

En cuanto al régimen de administración RITUXIMAB, la mayoría de nuestros pacientes recibieron 2 dosis de 1g, que concuerda con la posología más usada hoy en día en la práctica clínica de los reumatólogos. Otro punto a señalar es que en el estudio existió un porcentaje de pacientes que fueron tratados con rituximab en monoterapia o combinado sólo con antimaláricos, frente a otro grupo mayoritario a los que se les añadió rituximab a su tratamiento inmunosupresor de base. Este hecho nos permitió analizar si existían diferencias entre la monoterapia y el tratamiento combinado a nivel de efectividad y de seguridad de tratamiento. Es más, se cree que uno de los fallos del estudio LUNAR fue que, el hecho de que todos los pacientes estuvieran en tratamiento concomitante con micofenolato, probablemente pudiera haber reducido la fuerza del estudio para poder demostrar el beneficio que existe al añadir el rituximab a la terapia convencional (40).

1.2. Respuesta al tratamiento

Al contrario que en los ensayos clínicos mencionados anteriormente en los que no se alcanzó el objetivo de respuesta, nuestros pacientes obtuvieron una primera tasa de respuesta del 63%, que se incrementó al 78% al final del estudio. Las mejoras en las cifras de proteinuria, complemento y otros parámetros analíticos observados a las 24 semanas se mantuvieron durante todo el seguimiento. De hecho la proteinuria media disminuyó un total de un punto

con respecto al valor basal medio. Como era de esperar, la mejoría en la actividad se acompañó de una reducción considerable de la dosis de glucocorticoides, observándose al final del seguimiento una reducción de hasta 1/3 de la dosis requerida inicialmente. De acuerdo con este hallazgo, se observó que los requerimientos esteroideos fueron menores en los respondedores comparado con los no respondedores. Por último, las mejores respuestas se observaron en los pacientes que padecían principalmente artritis, afectación cutánea, nefritis, neurolupus y trombocitopenia, lo cual coincidía con las principales indicaciones primarias del tratamiento que fueron similares.

Los hallazgos de efectividad de nuestro estudio concuerdan con los resultados obtenidos en estudios previos con rituximab, donde por lo general se habían objetivado reducciones del índice SLEDAI en torno al 38-70% (44, 130, 131, 137, 143, 144, 151). Sin embargo es importante destacar que también se han reportado tasas de respuesta más modestas en los estudios que incluían pacientes con una actividad más leve de la enfermedad (143, 144). Esto apoyaría el hecho de que en nuestro estudio halláramos que la probabilidad de una respuesta positiva se incrementaba en un 10% por cada punto sumado al índice SELENA-SLEDAI basal y que era 7 veces más alta en los pacientes que habían requerido en alguna ocasión dosis muy elevadas de esteroides. Es decir, que cuanto más activa era la enfermedad basal, mejor respuesta al tratamiento. Esta observación ya ha sido comunicada anteriormente (349) y es interesante ya que podría explicar de manera parcial porqué se observaron peores respuestas en los ensayos clínicos EXPLORER y LUNAR, en los que los que se reclutaron pacientes con una enfermedad menos activa.

Por otro lado, también observamos que un 37,5% de nuestros pacientes, que tenían antecedentes de complicaciones hematológicas suficientemente graves como para haber requerido corticoides, danazol, inmunoglobulinas o incluso esplenectomía, tuvieron un 83% de menor probabilidad de responder a rituximab. Esta afirmación puede parecer contradictoria con lo anteriormente comentado pero sin embargo no sería raro pensar que los pacientes con una enfermedad refractaria, que ya han fallado a múltiples terapias, puedan ser más proclives a fallar nuevamente a otros tratamientos. Es decir, cuanto más refractarios, menor probabilidad de respuesta al rituximab.

1.3. Pauta de administración y tratamiento concomitante

Hasta ahora, dado que no existe una aprobación oficial para su uso en ficha técnica, no hay establecido ningún consenso en cuanto al régimen de administración del rituximab en el

LES. De hecho, no se han realizado comparaciones directas entre la administración de 2 dosis intravenosas de 1 g frente a 4 infusiones semanales de rituximab de $375\text{mg}/\text{m}^2$ (349). Esto podría suponer una de las limitaciones de nuestro estudio, pero al analizarlo no encontramos una relación entre esta variable y la tasa de respuesta. Sin embargo, en cuanto a la seguridad, sí encontramos que el régimen de 4 dosis de rituximab de $375\text{mg}/\text{m}^2$ se asoció con un riesgo 5 veces más elevado de infecciones severas en comparación con las 2 dosis de 1g. Este hallazgo, si se confirmase en otros estudios, podría suponer un impacto sobre el manejo futuro de estos pacientes.

Tampoco existe ningún protocolo acerca del uso de rituximab en monoterapia o combinado con otro inmunosupresor. Un estudio observó que el añadir ciclofosfamida al rituximab no ofrecía ningún beneficio adicional en el tratamiento de la nefritis lúpica a las 48 semanas (44). En nuestro caso, tratándose de un estudio retrospectivo, la opción de añadir el rituximab al inmunosupresor que el paciente estaba recibiendo previamente o la de administrarlo en monoterapia, fue a elección de cada reumatólogo participante. Este hecho pueda suponer por tanto un sesgo de selección en nuestro estudio, ya que somos conscientes que existe aún una tendencia general de tratar los casos de lupus agresivos con ciclofosfamida como clásicamente se ha utilizado y que además en muchos casos puede prevalecer la precaución de combinarla con rituximab en vez de probar la monoterapia. Sin embargo, al analizarlo, no encontramos un mayor beneficio con el tratamiento combinado. Es más, la combinación de ciclofosfamida con bolos de esteroides intravenosos se asoció con una menor eficacia al final del estudio y una mortalidad más elevada, aunque estos resultados puedan reflejar otro sesgo de selección al tratarse de pacientes con una enfermedad más refractaria.

Al contrario de lo reportado con la ciclofosfamida, observamos que los pacientes que estaban en tratamiento concomitante con otros inmunosupresores distintos de la ciclofosfamida tenían 3,5 veces más probabilidad de alcanzar una respuesta al final del estudio. Este hecho concuerda con los hallazgos de otros estudios. En el registro AIR (151) y en la serie Vital (166), la combinación de cualquier inmunosupresor (ciclofosfamida y otros) también resultó en un mayor descenso en los niveles SELENA-SLEDAI a los 6 meses de la infusión. Existen varios estudios no controlados que sugieren que tanto el tratamiento combinado como la monoterapia pueden ser opciones efectivas para este tipo de pacientes (48, 143, 163). El problema reside en que no existen estudios de calidad que demuestren que la combinación supone realmente un beneficio. El hecho de que en muchos estudios se usaran altas dosis de corticosteroides o dosis intravenosas de los mismos en el momento de la infusión de

rituximab, limita aún más la fuerza del estudio para probar este beneficio. Sería de interés en el futuro realizar más estudios sobre este punto, con el fin de poder constatar si se puede ahorrar una mayor inmunosupresión a estos pacientes. Recientemente el Consenso de la Sociedad Española de Reumatología sobre el uso de terapias biológicas en el LES, recomendó mantener la terapia inmunosupresora previa en aquellos pacientes con LES que son tratados con rituximab si habían tenido una respuesta insatisfactoria a los mismos (350).

Con respecto al tratamiento combinado de rituximab con hidroxicloroquina, en nuestro análisis no observamos que se asociara con mejores respuestas clínicas. Estos hallazgos contrastan con estudios previos que han sugerido que la combinación de hidroxicloroquina con micofenolato pudiera mejorar la supervivencia de los pacientes con nefritis lúpica (351, 352). Sin embargo no existen aún estudios que demuestren los beneficios del tratamiento combinado con rituximab. Una limitación al respecto fue que en nuestro caso no se recogió el número de pacientes que suspendieron o reintrodujeron la hidroxicloroquina a lo largo del seguimiento, lo que sugiere entre otros factores, que este estudio no tenía el diseño más apropiado para comprobar los beneficios o no de añadir antipalúdicos al tratamiento con rituximab.

Otro aspecto que es interesante analizar respecto a los tratamientos concomitantes es el uso de glucocorticoides. Como sabemos, la mayoría de nuestros pacientes estaban asumiendo dosis moderadas o altas de glucocorticoides en el momento de comenzar el estudio (dosis media \pm DE, $0,5 \pm 0,8$ mg/kg/día). De hecho, uno de los fallos que se atribuyeron al estudio EXPLORER fue precisamente que las altas dosis de esteroides podrían haber limitado la fuerza del estudio para demostrar el beneficio de añadir rituximab al tratamiento. Sin embargo, en nuestro caso, a pesar de que nuestros pacientes estuvieran asumiendo altas dosis de esteroides basales, sí observamos una buena respuesta con el rituximab a lo largo del seguimiento, traduciéndose además en una disminución considerable de la dosis esteroidea requerida.

1.4. Recidivas y retratamiento

En nuestro análisis reportamos que el tiempo medio transcurrido para alcanzar una respuesta definida fue de 3-4 meses, mientras que varios parámetros individuales en relación con la enfermedad mejoraron más tempranamente. El índice SELENA-SLEDAI más bajo se alcanzó cerca de los 6 meses y los pacientes estuvieron libres de brote durante una media de

10,8 meses. Estos resultados concuerdan con los resultados de otros estudios (119, 126, 132, 135-137, 140). Es más, solo un 38% de los respondedores experimentó un brote (la mayoría leve) tras la infusión final de rituximab. Algunos autores han identificado algunos predictores de recidiva, como anticuerpos anti-ENA o bajos niveles de C3 (142). Sin embargo en nuestro estudio no se identificó ninguno.

Una cuestión en debate acerca del tratamiento con rituximab es la periodicidad de los cursos. En estudios previos se han utilizado regímenes de administración variables, sin existir mucha información al respecto (127, 132, 135, 147, 151, 353). En nuestro estudio un 53% de los pacientes fueron retratados (1 paciente llegó a recibir incluso 9 cursos), pero un punto a destacar es que menos de un tercio de estos pacientes recibió un curso cada 6 meses (según el protocolo establecido), mientras que los 2/3 restantes fueron tratados a demanda. Esta cuestión es de importancia capital ya que en el LES se ha observado que tras la depleción profunda de células B inducida por el tratamiento, existe una fase, alrededor del sexto mes post-tratamiento, donde reaparecen las células B transicionales y naive que se han relacionado con una fase tardía de mejoría clínica. Por ello se cree que en el LES, a diferencia de lo que ocurre con la artritis reumatoide, los ciclos repetidos de depleción de células B cada 6 meses eliminarían estas células B transicionales y naive, retrasando por tanto la fase tardía de mejoría (95). Este proceso podría explicar por qué nosotros observamos un aumento en la tasa de respuesta de nuestros pacientes con el paso del tiempo y también podría ser otra de las razones del fallo de los ensayos clínicos previos (149, 152), en los que los cursos de rituximab se administraron de manera protocolaria cada 6 meses en todos los pacientes.

En cuanto a la depleción de células B, una limitación de nuestro estudio fue que sólo se dispuso del conteo de células CD19 en 31 pacientes. Aun así se objetivó una depleción exitosa en un 68% de los pacientes tras el primer curso de rituximab. Sin embargo, al final del seguimiento se observó un pequeño repunte del conteo de células CD19+ (%), media \pm DE: $1,4 \pm 3,2$ a las 24 semanas frente a $1,7 \pm 2,6$ al final del seguimiento; $p < 0,001$).

1.5. Seguridad del rituximab

En cuanto al perfil de seguridad del fármaco, hasta ahora los datos disponibles mostraban un perfil relativamente seguro del rituximab en el tratamiento de los pacientes con LES.

En nuestro caso, para el análisis de seguridad utilizamos todo el conjunto de la muestra (todos los pacientes que recibieron al menos una infusión de rituximab) y no solo los

incluidos en el análisis de efectividad. En nuestra cohorte cabe resaltar que se reportó un número considerable de eventos adversos, siendo los más frecuentes los de tipo infeccioso y casi la mitad de ellos de tipo grave. Mientras que la mayor parte de las reacciones infusionales fueron leves y similares a las observadas en los pacientes con artritis reumatoide, las infecciones que reportamos fueron severas en su mayoría y más frecuentes que las observadas en los pacientes con LES del registro AIR (151). De hecho estos autores reportaron una tasa de infecciones severas de tan solo 6,6/100 pacientes-año [similar a la observada para los fármacos anti-TNF en el tratamiento de la AR (169, 170) y la mitad de la observada en nuestro caso]. Sin embargo cabe destacar que usaron criterios diferentes para definir infección severa y que además observaron un caso más de infección con desenlace fatal. Es más, en nuestro caso, no es del todo seguro que las infecciones que observamos se pudieran atribuir exclusivamente al rituximab, dado que en el grupo ya existía una elevada tasa de infecciones severas antes de la administración del fármaco. Es decir que el hecho de que en el estudio se incluyeran pacientes con lupus grave, algunos de ellos con niveles de complemento severamente inmunodeprimidos o leucopenia y la mayoría con antecedentes de haber recibido muchos agentes inmunosupresores, podría representar un factor de confusión adicional. A favor de esto, nuestro análisis constató que la mayoría de los factores de riesgo de desarrollo de eventos adversos totales, infecciones severas y mortalidad estaban vinculados a la comorbilidad y a la severidad del lupus y no al uso del fármaco. Por ejemplo, el índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad se correlacionó positivamente con el riesgo de desarrollar eventos adversos en general y si recordamos, nuestros pacientes tenían un grado de comorbilidad desproporcionado al compararlos con individuos de la misma edad libres de la enfermedad.

El único factor de riesgo de desarrollo de infección severa que identificamos específicamente relacionado con rituximab fue el régimen de administración de 4 infusiones de 375mg/m², que se asoció con un riesgo 5 veces más elevado de infecciones severas en comparación con las 2 dosis de 1g. Este hallazgo, si se constata en otros estudios, podría suponer un impacto sobre el manejo futuro de estos pacientes.

Por el contrario creemos que el aumento de riesgo de infección severa que observamos en relación con el tratamiento combinado de rituximab, ciclofosfamida y bolos intravenosos de glucocorticoides podría ser debido a una combinación de 2 factores: el uso conjunto de varios tratamientos inmunosupresores sumado a la severidad basal de estos pacientes, pudiendo suponer un sesgo de selección (mayor refractariedad de este subgrupo). En conclusión, creemos que toda esta suma de factores pueda explicar el hecho de que en

nuestra cohorte se detectara una mayor tasa de infecciones severas en comparación con otros estudios.

Otro punto interesante a analizar es que la incidencia de infecciones graves fue mayor en fases tempranas del estudio (antes de la semana 40), aunque también se observó un repunte de las mismas más adelante en el seguimiento (tras la semana 80). El hecho de que se reportaran más infecciones por debajo de los 10 primeros meses podría tener sentido al tratarse de fases precoces tras la infusión, cuando los pacientes tenían aún un grado elevado de actividad de la enfermedad sumado a la depleción linfocitaria inducida por la infusión del fármaco, que les condicionaba una mayor susceptibilidad a las infecciones.

Por último destacar que a lo largo del seguimiento se produjeron 6 fallecimientos, 2 de los cuales relacionados con eventos infecciosos y el resto por causas secundarias a la actividad del lupus. En el análisis multivariante encontramos que la mortalidad se asoció con el índice de daño acumulado, el número de criterios de brote grave SFI y el tratamiento concomitante con prednisolona más bolos de ciclofosfamida. En cuanto a la asociación entre daño acumulado y mortalidad, nuestro hallazgo concuerda con los publicados en otros estudios (354). Sin embargo no se observó relación con el índice SELENA-SLEDAI ni con la pauta de administración de rituximab.

1.6. Dificultades y limitaciones del estudio general

Para minimizar los sesgos inherentes a un estudio observacional, y sobre todo tratándose de un estudio multicéntrico, se aseguró que todos los reumatólogos participantes tuvieran experiencia en el manejo de pacientes con LES y que llevaran a cabo un entrenamiento específico para la recogida de los datos requeridos para el estudio. Además se utilizó un protocolo consensuado y una monitorización de la consistencia de los datos.

Una de las pegas en relación con la consistencia interna de los datos fue el hecho de que, siendo un estudio multicéntrico, los parámetros analíticos provenían de distintos laboratorios. Sin embargo este hecho se intentó subsanar solicitando los valores de referencia de cada centro participante. Por otro lado para facilitar la comparación de los datos algunas variables cuantitativas, como por ejemplo los anticuerpos anti-dsDNA, se transformaron en variables dicotómicas en función de los límites de cada laboratorio. Como se ha comentado más arriba, otra de las limitaciones que encontramos fue que sólo se dispuso del conteo de células CD19 en 31 pacientes.

En cuanto a los índices de actividad utilizados en nuestro estudio, se optó por el índice SELENA-SLEDAI modificado en el que se excluía el apartado de la valoración global del médico, ya que muchos de los centros no tenían recogido este dato. Cabe destacar que el índice SLEDAI está validado incluso si se realiza retrospectivamente, por lo que en los casos en los que faltaba este dato, se calculó retrospectivamente (355).

2. SUBESTUDIO LIPÍDICO

Hoy en día la enfermedad coronaria prematura se considera una de las principales causas de morbi-mortalidad en los pacientes con LES en los países desarrollados. De hecho, es bien sabido que el LES y la enfermedad cardiovascular comparten un mismo mecanismo patofisiológico, la inflamación sistémica mantenida que se traduce en una arteriosclerosis acelerada. A raíz de que recientemente se ha constatado que este exceso de riesgo cardiovascular no se puede atribuir exclusivamente a la elevada prevalencia de factores de riesgo tradicionales observada en estos pacientes (200, 201), se están comenzado a identificar otros posibles factores responsables, como los ligados a la inflamación mantenida y los efectos secundarios de las terapias empleadas (18, 47, 195, 223). Sin embargo, a pesar del interés creciente acerca del riesgo cardiovascular acelerado en las enfermedades reumáticas, existen aún pocos estudios sobre del efecto de las terapias biológicas en el perfil lipídico de los pacientes con lupus, y concretamente con rituximab. Por ello, dado que en la cohorte LESIMAB disponíamos de un número considerable de casos de lupus activo, refractario a terapia inmunosupresora y esteroidea, consideramos que era una buena ocasión para realizar un subanálisis, con el fin de conocer si en nuestra muestra se producían cambios lipídicos tras el tratamiento con rituximab y en caso afirmativo, analizar los factores a los que se podían atribuir estos cambios. Hasta ahora solo existía un pequeño estudio retrospectivo de 12 pacientes (322) que sugería que el tratamiento con rituximab podría tener un efecto beneficioso a largo plazo sobre el perfil lipídico de los pacientes con LES refractario, en relación con la mejoría de la actividad inflamatoria de la enfermedad.

2.1. Características de la muestra y perfil cardiovascular

Nuestra submuestra constaba de 79 pacientes, siendo por tanto el estudio de mayor tamaño muestral descrito hasta ahora sobre este tema concreto. Esto nos permitió poder confirmar las observaciones preliminares encontradas hasta ahora y sacar unas conclusiones más sólidas al respecto.

A pesar de que se podría pensar en un sesgo de selección debido al método de elección de los pacientes de la submuestra, es importante resaltar que este conjunto, al igual que la cohorte completa de LESIMAB, era representativo de gravedad y refractariedad y tenía unos parámetros clínicos y de laboratorio similares a la muestra inicial. Partíamos por tanto de un conjunto de pacientes con enfermedad activa y que estaban recibiendo una dosis moderada o alta de glucocorticoides al inicio del estudio. Al igual que en la cohorte completa, una de las afectaciones orgánicas más frecuentemente encontrada fue la renal, siendo la nefritis lúpica refractaria la indicación primaria de rituximab. Por tanto, en relación con la suma de factores de inflamación activa y cotratamientos, cabía esperar encontrar ese exceso de riesgo cardiovascular en la submuestra.

Basalmente la mayor parte de nuestros pacientes mostraban al menos un factor de riesgo cardiovascular clásico, siendo los más frecuentes la hipertensión arterial, la dislipemia y el tabaquismo. De hecho, un 40% tenían antecedentes de algún tipo de dislipemia y el mismo porcentaje de pacientes eran hipertensos. Por el contrario, el índice de Framingham basal resultó ser bajo en la mayor parte de la muestra. Sin embargo es bien sabido que este score de riesgo cardiovascular está fuertemente influenciado por la edad del paciente, por lo que se reduce su utilidad en los pacientes jóvenes con LES (356), como es el caso de la mayoría de nuestros pacientes. De hecho se ha propuesto recientemente una nueva ecuación para calcular el riesgo cardiovascular de los pacientes con LES, que incluye entre otras variables, la actividad de la enfermedad medida por SLEDAI o la presencia de anticoagulante lúpico.

En cuanto a los cotratamientos de la submuestra fueron similares a los de la cohorte completa (basalmente 100% recibían glucocorticoides y la mitad de la muestra hidroxycloquina). Sin embargo, un dato contradictorio que observamos es que, a pesar de que un 40% de los pacientes tenían antecedentes de dislipemia, tan sólo un 20% de la muestra estaba recibiendo estatinas al inicio del estudio. Es más, su consumo se mantuvo prácticamente invariable a lo largo del seguimiento. Este dato pone al descubierto la posible infrautilización de los hipolipemiantes por parte de los reumatólogos participantes en nuestro estudio, tal vez reflejando una todavía escasa sensibilización general a cerca de la importancia del tratamiento precoz del riesgo cardiovascular de estos pacientes.

En cuanto al perfil lipídico, el primer dato a destacar es que al contrario de lo que cabría esperar, observamos que en los parámetros lipídicos basales de la muestra como conjunto se encontraban dentro de los rangos de normalidad. Este hallazgo tal vez pueda explicarse en parte porque un 50% de los pacientes estaban recibiendo hidroxycloquina antes de iniciar el

rituximab y hay estudios que sugieren mejorías lipídicas en relación con los antipalúdicos (71, 259). Sin embargo, al analizar los pacientes individualmente y considerando como punto de corte los criterios de dislipemia del NCEP ATP-III (*National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel*)(336), se observó que un 69% de los pacientes tenía al menos una anomalía lipídica. Las anomalías más frecuentemente observadas fueron la presencia de altos niveles de LDL y bajos niveles de HDL, (que se corresponden con el perfil más aterogénico), seguidos de las cifras de CT y TG en un porcentaje menor de la muestra. Por lo general es sabido que los pacientes con LES tienen niveles más altos de TG, CT y LDL, junto con cocientes CT/HDL más desfavorables, en comparación con sujetos sanos (211, 213, 214, 223, 260, 322, 357). Sin embargo, estos datos no se pueden comparar fácilmente con los de nuestra cohorte ya que se han obtenido de estudios que incluyen pacientes con perfiles muy distintos de actividad, severidad y tratamiento, que son parámetros que pueden influenciar fuertemente en los resultados.

Otros estudios afirman que los pacientes con LES tienen peores cocientes CT/HDL y LDL/HDL durante las recidivas que en periodo de remisión (213) y que los pacientes con síndrome nefrótico tienen niveles más elevados de CT y LDL y niveles más bajos de HDL (214). Nuestros resultados concuerdan con estas afirmaciones ya que todos nuestros pacientes tenían una actividad elevada en el momento de recibir tratamiento con rituximab y casi un tercio tenían nefritis activa a nivel basal. Además observamos una correlación entre la actividad del lupus y los niveles de TG en el momento basal, mientras que la severidad de la proteinuria se correlacionó con los niveles de CT y LDL.

Un aspecto que tuvimos en cuenta en el análisis es que nuestros pacientes estaba recibiendo fármacos con efectos conocidos sobre los niveles lipídicos plasmáticos en el momento de entrar en el estudio. Todos ellos estaban siendo tratados con altas dosis de esteroides, un 50% estaban recibiendo antimaláricos y un 20% estatinas. Es bien sabido que las dosis elevadas de glucocorticoides incrementan la síntesis hepática de lipoproteínas, lo que podría haber resultado en unos niveles elevados de TG, CT y LDL (223) en nuestros pacientes. En nuestro caso, este efecto podría haber sido parcialmente compensado por el efecto de los antimaláricos, como se ha descrito por otros autores (211, 223, 260), lo cual podría explicar el hecho de que no encontráramos una correlación entre la dosis basal de corticoides y los principales parámetros lipídicos.

Por otro lado, las estatinas también modifican los niveles de CT y LDL. Sin embargo como comentábamos anteriormente, en nuestro estudio observamos que fueron infrutilizadas

durante todo seguimiento. Estas observaciones también han sido reportadas en otros estudios (358). Este porcentaje infratratado quizá pueda deberse a que muchos médicos de atención primaria y reumatólogos a la hora de instaurar un hipolipemiente no se rigen aún por los nuevos criterios de control de riesgo cardiovascular aplicados a los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas (205, 359).

2.2. Cambios lipídicos tras el tratamiento y factores relacionados

Al igual que en la cohorte completa de LESIMAB, las tasas de respuesta y las mejorías en los parámetros clínicos y de laboratorio fueron similares en la submuestra lipídica. Es más, al final del seguimiento un 13% de los pacientes consiguió suspender por completo los glucocorticoides y el resto redujo la dosis requerida de manera significativa. Por el contrario, el uso y la dosis de hidroxiclороquina se mantuvieron de manera más o menos constante.

Tras el tratamiento con rituximab se observaron mejorías discretas en el perfil lipídico a corto y largo plazo. A pesar de que los niveles de TG estaban elevados sólo en un pequeño número de pacientes, las mayores reducciones lipídicas se observaron en los TG (disminución de un 12% al final del seguimiento) y se reflejaron en los valores de índice aterogénico. Sin embargo, aunque este cambio supuso una mejoría en el perfil lipídico de nuestros pacientes, fue insuficiente para tener relevancia sobre el riesgo cardiovascular, ya que las reducciones en los niveles de CT y C-LDL no alcanzaron significación estadística y los niveles de HDL se mantuvieron estables durante el seguimiento.

Sin embargo, analizando el subgrupo de pacientes que habían alcanzado una respuesta clínica (parcial o completa) en la actividad del lupus, vimos que éstos sí mejoraban sensiblemente sus cifras lipídicas y que además existía una correlación positiva en el análisis bivalente entre el grado de mejoría inflamatoria de la enfermedad (reducción absoluta del SLEDAI) y el descenso de los niveles de TG y CT tanto a las 24 semanas como al final del seguimiento. Estos resultados confirman los resultados preliminares que se publicaron recientemente por el grupo de Isenberg (322) y confirman nuestra hipótesis acerca de que las mejoras lipídicas no serían debidas a un efecto hipolipemiente intrínseco del fármaco, sino en relación con la mejoría de la actividad inflamatoria de la enfermedad. Por otro lado, las mejorías de las cifras de proteinuria se correlacionaron positivamente con la disminución del CT y C-LDL, así como la mejoría del cociente CT/HDL a las 24 semanas de primer curso de rituximab. Esta correlación se mantuvo al final del seguimiento sólo con las cifras de CT y cociente CT/HDL.

Sin embargo, la variación en la actividad de la enfermedad no es la única variable que puede influenciar las mejorías lipídicas en estos pacientes, ya que existen otros factores importantes asociados al lupus y a su tratamiento que sufrieron variaciones durante el seguimiento. Por ejemplo, paralelamente a la mejoría de la actividad de la enfermedad se observó una reducción en la dosis requerida de glucocorticoides, suponiendo la suspensión de los mismos en un alto porcentaje de pacientes. Este dato podría explicar en parte los descensos de TG sin observarse cambios en los niveles de HDL, aunque no se observó una mejoría de los niveles de LDL como era de esperar. Es más, rechazando nuestra hipótesis y contrariamente a lo observado por Pego-Reinosa (322), no se observó una correlación entre el ahorro de corticoides y los cambios lipídicos. Puede ser que el corto periodo de estudio influyera algo sobre estos resultados. Así mismo la toma de hidroxiclороquina no se correlacionó con las mejorías lipídicas. Este hallazgo tal vez pueda explicarse en parte por el hecho de que los pacientes ya estaban tomando el fármaco desde hace bastante tiempo y que además no se observaron modificaciones significativas en su dosis a lo largo del seguimiento.

Por último, empleamos un análisis de regresión lineal multivariante para analizar las influencias de la enfermedad y los tratamientos concomitantes sobre el perfil lipídico. Dado que se conoce que la proteinuria tiene un peso considerable en el índice SLEDAI, y basándonos en los hallazgos observados en el análisis bivariante, decidimos llevar a cabo 2 modelos, primero uno que excluyera los cambios en la proteinuria y después otro que la tuviera en cuenta como posible variable explicativa. Es importante destacar que la nefritis estaba presentes en 1/3 de los pacientes y que antes de incluir la proteinuria como variable independiente, confirmamos que no se observara colinealidad entre los cambios en la proteinuria y la mejoría del SLEDAI. Los resultados del primer modelo sugirieron que el beneficio del rituximab sobre el perfil lipídico (mejoría de las cifras de TG y CT) se producía gracias a la reducción de la actividad de la enfermedad y no a través de los cambios en el tratamiento concomitante. El segundo modelo resultó ser un modelo más sólido y estableció que la reducción en la proteinuria era un predictor aún más fuerte de los cambios lipídicos, observándose una mayor correlación con la mejoría de los valores de LDL, HDL y cociente CT/HDL al final del seguimiento.

Por el contrario, como mostró en el análisis bivariante, el ahorro esteroideo o la toma de antimaláricos no se correlacionaron con las mejorías lipídicas. Sólo se observó un leve efecto sobre la disminución de las cifras de CT al final del seguimiento cuando se introdujeron las estatinas, aunque como mencionamos anteriormente, tan solo una cuarta parte de la muestra asumían estatinas al final del seguimiento. Un dato a añadir es que el reciente

estudio LAPS (*Lupus Atherosclerosis Prevention Study*) (360) sugirió que la atorvastatina no frena la progresión de la arteriosclerosis subclínica en los pacientes con LES a largo plazo. Estos autores describieron que los efectos antiinflamatorios de las estatinas observados en la población general, no se objetivaron en los pacientes con lupus de su estudio. Este hecho podría hacernos pensar que tal vez el riesgo tan acentuado de estos pacientes, haga que requieran dosis más elevadas de estatinas para poder alcanzar las mejorías lipídicas y antiinflamatorias deseadas. Otros estudios también han intentado evaluar si los regímenes de tratamiento clásico de la arteriosclerosis frenan o no el riesgo acelerado que existe en la población de pacientes con LES (361).

Sin embargo, cabe resaltar que ninguno de los modelos consiguió explicar más del 30% de los resultados de las variables lipídicas y solo un tercio de los pacientes tenían proteinuria significativa en el momento del inicio del tratamiento con rituximab. Por lo tanto, otros factores adicionales no controlados en nuestro estudio podrían haber influido en los efectos en la proteinuria y los lípidos. Como es sabido, Rituximab produce depleción de células B CD20+ y consecuentemente disminuye la presentación antigénica de los linfocitos T, la producción de anticuerpos y la producción de citokinas pro-inflamatorias como la IL-6, IL-1 y el TNF (362, 363). Estas citokinas, particularmente el TNF, están involucradas en la resistencia a la insulina (364, 365), interfieren con la lipoprotein-lipasa (366, 367), incrementan la síntesis de novo del VLDL en el hígado (212) y tienen un papel clave en la nefritis lúpica refractaria al tratamiento convencional (368, 369). Es decir que una de las hipótesis es que la reducción en los niveles de citokinas proinflamatorias podrían mediar los efectos del rituximab en el metabolismo de los TG y la proteinuria.

2.3. Dificultades y limitaciones del subestudio lipídico

Como comentábamos anteriormente, el hecho de que la población seleccionada para el análisis lipídico estaba limitada a un subgrupo de pacientes extraídos del estudio LESIMAB, podría representar un sesgo de selección. Sin embargo cabe destacar que las características generales, las manifestaciones principales del lupus y los tratamientos empleados incluyendo rituximab, glucocorticoides, antimaláricos y estatinas eran similares a los de la cohorte completa de LESIMAB. Es más, se compararon los niveles lipídicos basales de los pacientes seleccionados con los de la cohorte completa y no se encontraron diferencias.

Un segundo punto a destacar es el carácter retrospectivo de nuestro estudio. En un futuro sería interesante realizar estudios de tipo prospectivo, con un mayor periodo de seguimiento,

permitiéndonos evaluar si las mejorías lipídicas observadas se traducen en una disminución de la incidencia de eventos cardiovasculares futuros.

Un dato a destacar es que en nuestro estudio no especificamos si los parámetros lipídicos se analizaron o no en ayunas. Tratándose de un estudio retrospectivo no disponíamos de esta información, pero dimos por hecho que las analíticas fueron extraídas en ayunas como normalmente se indica a los pacientes.

Por último citar que un posible defecto del estudio fue el hecho de no reflejar el uso o no de anticonceptivos hormonales, sabiendo que por lo general es reconocido que el uso prolongado de estrógenos tiene un potencial efecto positivo sobre los niveles de HDL y LDL (370). Sin embargo por lo general es sabido que este tipo de fármacos no se emplean con frecuencia en las pacientes con LES debido al aumento de riesgo de trombosis y síndrome antifosfolípido.

CONCLUSIONES

IX. CONCLUSIONES

1. Rituximab puede ser una opción efectiva para controlar la actividad de la enfermedad en los pacientes con LES grave refractario a terapia estándar.
2. El control de la actividad de la enfermedad, especialmente la renal, parece mejorar a corto y largo plazo el perfil lipídico de estos pacientes.
3. La probabilidad de respuesta a rituximab parece mayor en los pacientes con enfermedad más activa y en aquellos que han requerido previamente altas dosis de glucocorticoides.
4. Los pacientes con antecedentes de complicaciones hematológicas refractarias podrían responder peor a rituximab.
5. El mantenimiento del inmunosupresor previo junto con rituximab podría aumentar la probabilidad de respuesta. Esto no fue observado en el caso de la combinación con ciclofosfamida.
6. El tratamiento con rituximab en pacientes refractarios a terapia estándar se asocia a una alta frecuencia de acontecimientos adversos graves.
7. La mayoría de los factores de riesgo para el desarrollo de tales eventos, incluyendo infecciones graves y mortalidad, están más vinculados a la comorbilidad y a la gravedad del LES que al propio tratamiento.
8. Los factores relacionados con el tratamiento que más influyeron en los acontecimientos adversos graves fueron: régimen de administración de 4 infusiones de 375mg/m^2 , tratamiento concomitante con ciclofosfamida y terapia combinada de bolos de ciclofosfamida y bolos de corticoides.

ABREVIATURAS

X. ABREVIATURAS

AAS: ácido acetil salicílico

Anti- β 2-GPI: anticuerpos anti- β 2-GPI

Ac: anticuerpo

ACL: anticuerpos anticardiolipina

ACR (*American College of Rheumatology*): Colegio Americano de Reumatología

ACV: accidente cerebro vascular

ADA (*American Diabetes Association*): Asociación Americana de Diabetes

ADMA (*Assymetric dimethylarginine*): dimetilarginina asimétrica

AFL: anticuerpos anti-fosfolípidos

Ag-Ac: antígeno-anticuerpo

AINE: antiinflamatorios no esteroideos

AIP (*Atherogenic Index of Plasma*): índice aterogénico

AIR (*French Autoimmunity and Rituximab registry*): registro AIR

AL: anticoagulante lúpico

ALPS: síndrome linfoproliferativo autoinmune

ALT: alanina aminotransferasa

ANA: anticuerpos frente al DNA

ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos

Anti-DNA: anticuerpos frente al DNA

Anti-dsDNA: anticuerpos frente al DNA doble cadena (*double stranded*)

Anti-DNA_n: anticuerpos frente al DNA nativo

Anti-Sm: anticuerpos frente al antígeno Sm

Anti-RNP: anticuerpos frente a ribonucleoproteínas

Anti-TNF α : agentes inhibidores del TNF α

APECED: autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy

APRIL (*a proliferation-inducing ligand*)

AR: artritis reumatoide

AST: aspartato aminotransferasa

AZA: azatioprina

BILAG (*British Isles Lupus Assessment Group Scale*): índice de actividad BILAG

BLyS (*B lymphocyte Stimulator*)

BSRBR (*The British Society for Rheumatology Biologics Register*): Registro de Terapias Biológicas de la Sociedad Británica de Reumatología

CIOMS (*Council for the International Organizations of Medical Sciences*)

DE: desciación estándar

EASSER: Grupo de Trabajo de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas de la Sociedad española de Reumatología

ECG: electrocardiograma

ECLAM (*European Consensus Lupus Activity Measure*): índice de actividad ECLAM

Células LE: células del lupus

CBP: cirrosis biliar primaria

CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica

CCI (*Charlson Comorbidity Index*): índice de comorbilidad de Charlson

CD19: linfocitos CD19+

CD20: linfocitos CD20+

Céls: células

CH50: fracción Ch50 del complemento

CINCA (*Chronic infantile neurologic, cutaneous and articular*): enfermedad inflamatoria sistémica de inicio neonatal

CLASS (*Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study*): estudio CLASS

COX-1: isoforma 1 de la enzima ciclooxigenasa

COX-2: isoforma 2 de la enzima ciclooxigenasa

COXIBS: fármacos inhibidores de la ciclooxigenasa

CT: colesterol total

CT/HDL: cociente entre colesterol total y colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad

CYC: ciclofosfamida

C1: fracción C1 del complemento

C1q inhibidor: fracción C1q del complemento

C2: fracción C2 del complemento

C3: fracción C3 del complemento

C4: fracción C4 del complemento

DCB (*B-cell-depleting Therapy*): terapia deplectora de células B

DL: decilitro

DM: diabetes mellitus

Dx: diagnóstico

EA: espondilitis anquilosante

EC: ensayo clínico

ECG: electrocardiograma

EDPPCDH: enfermedad por depósito de pirofosfato cálcico dihidratado

EII: enfermedad inflamatoria intestinal

EMA (*European Medicines Agency*): agencia europea del medicamento

ENA: anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo

EPISER: estudio EPISER

EXPLORER (*Exploratory phase II-III SLE Evaluation of Rituximab*): estudio EXPLORER

FAME: fármacos moduladores de la enfermedad

FcR2A (*Fc receptor 2 alpha*)

Fcγ-IIIa (*Fcγ receptor IIIa*)

FDA (*the United States Food and drug Administration*)

FIV: fecundación in vitro

FMF: fiebre mediterránea familiar

FTA-ABS (*Fluorescent treponemal antibody absorption*)

G: gramo

GWAS (*Genom-wide association study*)

HACA: anticuerpos humanos anti-quiméricos

HAQ (*Health Assessment Questionnaire*): cuestionario de funcionalidad

HCQ: hidroxicloroquina

HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad

HHV-1: herpes simplexvirus-1

HLA-B27: antígeno de histocompatibilidad B27

HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima-A

HR: hazard ratio

HTA: hipertensión arterial

HTP: hipertensión pulmonar
HVP: virus papiloma humano
IAM: infarto agudo de miocardio
IC: intervalo de confianza
ICOS (*inducible coestimulator*): molécula ICOS
IFI: inmunofluorescencia indirecta
IFN: interferón
IFR5: factor 5 de regulación del interferón
IgM: inmunoglobulina M
IgG: inmunoglobulina G
IgG1: subclase 1 de la inmunoglobulina G
LL-2: interleukina 2
IL-6: interleukina 6
IL-10: interleukina 10
IMC: índice de masa corporal
IMID (*Immune-mediated Inflammatory Disease*): enfermedades inflamatorias inmunomediadas
IPEX (*Immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome*): Síndrome de Inmunodeficiencia, Poliendocrinopatía, Enteropatía, ligado al cromosoma X
ITIGAM (*integrin alpha M*)
IS: inmunosupresor
Iv: intravenoso
Kg: kilogramo
L: litro
LAPS (*Lupus Atherosclerosis Prevention Study*)
LCR: líquido cefalorraquídeo
LDH: lactato deshidrogenasa
LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad
LES: lupus eritematoso sistémico
LUNAR (*Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study*): estudio LUNAR
M: metro

MEDAL (*Multinational Etoricoxib and Diclofenaco Arthritis Long-term*): estudio

MEDAL

Med-DRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities Terminology*)

Mg: miligramo

MMF: micofenolato mofetilo

MTX: metotrexato

6-MP: 6 metil-prednisolona

NCEP/ATP-III (*National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*)

Ng: nanogramo

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: odds ratio

PCR: proteína C reactiva

PTPN22 (*protein tyrosin phosphatase 22*)

PTT: púrpura trombótica trombocitopénica

Pts: pacientes

P25-p75: percentil 25-percentil 75

Rc: receptor

RMN: resonancia magnética nuclear

RTX: rituximab

R²: razón de probabilidades

SAF: síndrome anti-fosfolípido

SCP: serie de casos prospective

SCR: serie de casos retrospectiva

Sd: síndrome

SDI (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR damage index*): índice de daño SLICC

SELENA-SLEDAI (*Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus: National Assessment trial*): índice de actividad SELENA-SLEDAI

SER: Sociedad Española de Reumatología

SFI (*SELENA-SLEDAI Flare Index*): índice de brote

SHID (*Hyperimmunoglobulin D Syndrome*): síndrome de hiper IgD y fiebre periódica

SLAM (*Systemic Lupus Activity Measure*): índice de actividad SLAM

SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*): índice de actividad SLEDAI

SLICC (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*)

SRI (*SLE Responder Index*)

TA: tensión arterial

TACI (*Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilinligand Interactor*): receptor TACI

TG: triglicéridos

TLR (*Toll-like receptors*)

TNFR1: subtipo 1 de receptor del TNF (*tumor necrosis factor*)

TNFR2: subtipo 2 de receptor del TNF (*tumor necrosis factor*)

TPHA (*Treponema Pallidum Haemagglutination*): test de detección de anticuerpos anti-Treponema

TRAPS (*Tumor necrosis factor Receptros Associated Syndrome*): síndrome periódico asociado al receptor del TNF

UGPL (*unit G phospholipid*)

UMPL (*unit M phospholipid*)

UVB: luz ultravioleta B

VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*): test de detección de anticuerpos anti-Treponema

VEB: virus Epstein Bar

VHB: virus de la hepatitis B

VLDL

VSG: velocidad de sedimentación glomerular

AGRADECIMIENTOS

XI. AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado y apoyado durante mi trayectoria profesional y en especial durante el periodo de formación como Residente de Reumatología en el Hospital Carlos Haya de Málaga. Gracias a todos los que han hecho posible la realización de la presente Tesis Doctoral.

Con especial mención a:

Todos los Reumatólogos de los centros participantes en el estudio LESIMAB:

J.M. Pego-Reigosa¹⁴, J.L. Marengo de la Fuente², L. Carreño³, M. Galindo Izquierdo⁴, E. Tomero⁵, I. Rúa-Figueroa⁶, B.E. Hernández-Cruz⁷, J. Narváez⁸, E. Úcar⁹, A. Olivé¹⁰, A. Zea¹¹, M. Fernández-Castro¹², E. Raya-Álvarez¹³, M. Freire¹⁵, V.M. Martínez-Taboada¹⁶, J. Pérez-Venegas¹⁷, A.I. Sánchez-Atrio¹⁸, I. Villa-Blanco¹⁹, S. Manrique Arija¹, V. Rodríguez-García¹, C.M. Romero-Barco¹, F.J. López-Longo³, P.E. Carreira⁴, R. Martínez Pérez², R. García-Vicuña⁵.

¹Rheumatology Service. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. University of Málaga. ²Rheumatology Section. Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla. ³Rheumatology Service. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁴Rheumatology Service. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁵Rheumatology Service. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. ⁶Rheumatology Service. Hospital Universitario Dr. Negrín. Gran Canaria. ⁷Rheumatology Service. Hospital Clínico Universitario Virgen Macarena. Sevilla. ⁸Rheumatology Service. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. ⁹Rheumatology Service. Hospital Universitario de Basurto. Bilbao. ¹⁰Rheumatology Service. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. ¹¹Rheumatology Service. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ¹²Rheumatology Service. Hospital Puerta de Hierro. Madrid. ¹³Rheumatology Service. Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada. ¹⁴Rheumatology Service. Hospital do Meixoeiro. Vigo. Pontevedra. ¹⁵Rheumatology Service. Hospital Juan Canalejo. A Coruña. ¹⁶Rheumatology Service. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. ¹⁷Rheumatology Section. Hospital de Jerez de la Frontera. Cádiz. ¹⁸Rheumatology Service. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. ¹⁹Rheumatology Section. Hospital de Sierrallana. Torrelavega. Santander.

Mi director de tesis, Antonio Fernández Nebro por su apoyo incondicional, su paciencia y cariño durante todos estos años.

A todos los componentes del servicio de Reumatología del Hospital Carlos Haya, y en especial a todas las Residentes, a Inma y Gaby.

A mis padres y mi hermana por estar siempre a mi lado a pesar de la distancia.

A Davide, por su amor durante todos estos años.

A todos, muchas gracias.

BIBLIOGRAFÍA

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Uramoto KM, Michet CJ, Jr., Thumboo J, Sunku J, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum.* 1999;42(1):46-50.
2. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus.* 2006;15(5):308-18.
3. Carmona L, Ballina J, Gabriel R, Laffon A. The burden of musculoskeletal diseases in the general population of Spain: results from a national survey. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(11):1040-5.
4. Lopez P, Mozo L, Gutierrez C, Suarez A. Epidemiology of systemic lupus erythematosus in a northern Spanish population: gender and age influence on immunological features. *Lupus.* 2003;12(11):860-5.
5. Alonso MD, Llorca J, Martinez-Vazquez F, Miranda-Filloo JA, Diaz de Teran T, Dierssen T, et al. Systemic lupus erythematosus in northwestern Spain: a 20-year epidemiologic study. *Medicine (Baltimore).* 2011;90(5):350-8.
6. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore).* 1993;72(2):113-24.
7. Wallace DJ, Podell T, Weiner J, Klinenberg JR, Forouzes S, Dubois EL. Systemic lupus erythematosus--survival patterns. Experience with 609 patients. *JAMA.* 1981;245(9):934-8.
8. Haga HJ, Cervera R. [Early diagnosis of systemic lupus erythematosus. A challenge for clinicians of different specialties]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1994;114(12):1409-11.
9. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9):1725.
10. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-86.
11. Bertsias G, Gordon C, Boumpas DT. Clinical trials in systemic lupus erythematosus (SLE): lessons from the past as we proceed to the future--the EULAR recommendations for the management of SLE and the use of end-points in clinical trials. *Lupus.* 2008;17(5):437-42.

12. Gladman DD, Goldsmith CH, Urowitz MB, Bacon P, Bombardier C, Isenberg D, et al. Crosscultural validation and reliability of 3 disease activity indices in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1992;19(4):608-11.
13. Ward MM, Marx AS, Barry NN. Comparison of the validity and sensitivity to change of 5 activity indices in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2000;27(3):664-70.
14. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, Sammaritano LR, et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2005;353(24):2550-8.
15. Buyon J, Petri M, Kim M, Kalunian K, Grossman J, Hahn B, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2005;142(12 Pt 1):953-62.
16. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39(3):363-9.
17. McGonagle D, McDermott MF. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med.* 2006;3(8):e297.
18. Liu Z, Davidson A. Taming lupus-a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med.* 18. United States 2012. p. 871-82.
19. Fu SM, Deshmukh US, Gaskin F. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus revisited 2011: end organ resistance to damage, autoantibody initiation and diversification, and HLA-DR. *J Autoimmun.* 37. England: 2011 Elsevier Ltd; 2011. p. 104-12.
20. Gualtierotti R, Biggioggero M, Penatti AE, Meroni PL. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 10. Netherlands: 2010 Elsevier B.V; 2010. p. 3-7.
21. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol.* 2003;56(7):481-90.
22. Graham RR, Hom G, Ortmann W, Behrens TW. Review of recent genome-wide association scans in lupus. *J Intern Med.* 2009;265(6):680-8.
23. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 358. United States 2008. p. 929-39.
24. Pieterse E, van der Vlag J. Breaking Immunological Tolerance in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2014;5:164.

25. Hardy CJ, Palmer BP, Muir KR, Sutton AJ, Powell RJ. Smoking history, alcohol consumption, and systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Ann Rheum Dis.* 1998;57(8):451-5.
26. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, Ide S, Atsumi T, et al. Cigarette Smoking, Alcohol Consumption, and Risk of Systemic Lupus Erythematosus: A Case-control Study in a Japanese Population. *J Rheumatol.* 39. Canada 2012. p. 1363-70.
27. Ghaussy NO, Sibbitt WL, Jr., Qualls CR. Cigarette smoking, alcohol consumption, and the risk of systemic lupus erythematosus: a case-control study. *J Rheumatol.* 2001;28(11):2449-53.
28. Chang C, Gershwin ME. Drug-induced lupus erythematosus: incidence, management and prevention. *Drug Saf.* 2011;34(5):357-74.
29. Charles PJ, Smeenk RJ, De Jong J, Feldmann M, Maini RN. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha: findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis Rheum.* 2000;43(11):2383-90.
30. De Bandt M, Sibilia J, Le Loet X, Prouzeau S, Fautrel B, Marcelli C, et al. Systemic lupus erythematosus induced by anti-tumour necrosis factor alpha therapy: a French national survey. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(3):R545-51.
31. Schiff MH, Burmester GR, Kent JD, Pangan AL, Kupper H, Fitzpatrick SB, et al. Safety analyses of adalimumab (HUMIRA) in global clinical trials and US postmarketing surveillance of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(7):889-94.
32. James JA, Kaufman KM, Farris AD, Taylor-Albert E, Lehman TJ, Harley JB. An increased prevalence of Epstein-Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 1997;100(12):3019-26.
33. Ulf-Moller CJ, Nielsen NM, Rostgaard K, Hjalgrim H, Frisch M. Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis and risk of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49(9):1706-12.
34. Sanchez-Guerrero J, Liang MH, Karlson EW, Hunter DJ, Colditz GA. Postmenopausal estrogen therapy and the risk for developing systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med.* 1995;122(6):430-3.
35. Sanchez-Guerrero J, Karlson EW, Liang MH, Hunter DJ, Speizer FE, Colditz GA. Past use of oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(5):804-8.
36. Grimaldi CM, Cleary J, Dagtas AS, Moussai D, Diamond B. Estrogen alters

thresholds for B cell apoptosis and activation. *J Clin Invest.* 2002;109(12):1625-33.

37. Crawford A, Macleod M, Schumacher T, Corlett L, Gray D. Primary T cell expansion and differentiation in vivo requires antigen presentation by B cells. *J Immunol.* 2006;176(6):3498-506.

38. Lund FE, Randall TD. Effector and regulatory B cells: modulators of CD4+ T cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(4):236-47.

39. Lund FE. Cytokine-producing B lymphocytes-key regulators of immunity. *Curr Opin Immunol.* 2008;20(3):332-8.

40. Ramos-Casals M, Sanz I, Bosch X, Stone JH, Khamashta MA. B-cell-depleting Therapy in Systemic Lupus Erythematosus. *Am J Med.* 2012;125(4):327-36.

41. Bruce IN. Re-evaluation of biologic therapies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22(3):273-7.

42. Clark J, Bourne T, Salaman MR, Seifert MH, Isenberg DA. B lymphocyte hyperactivity in families of patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 1996;9(1):59-65.

43. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349(16):1526-33.

44. Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Arend LJ, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum.* 2004;50(8):2580-9.

45. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease--an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med.* 52. United States 1972. p. 148-59.

46. Lovgren T, Eloranta ML, Kastner B, Wahren-Herlenius M, Alm GV, Ronnblom L. Induction of interferon-alpha by immune complexes or liposomes containing systemic lupus erythematosus autoantigen- and Sjogren's syndrome autoantigen-associated RNA. *Arthritis Rheum.* 2006;54(6):1917-27.

47. Petri M, Lakatta C, Magder L, Goldman D. Effect of prednisone and hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factors in systemic lupus erythematosus: a longitudinal data analysis. *Am J Med.* 96. United States 1994. p. 254-9.

48. Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Munoz S, Soto MJ. A systematic review of the off-label use of biological therapies in systemic autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore).* 2008;87(6):345-64.

49. Firestein GS, Budd RC, Harris Jr ED, McInnes IB, Ruddy S, Sargent JS. Textbook of Rheumatology 2009.
50. Neeck G, Federlin K, Graef V, Rusch D, Schmidt KL. Adrenal secretion of cortisol in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1990;17(1):24-9.
51. Kowanko IC, Pownall R, Knapp MS, Swannell AJ, Mahoney PG. Time of day of prednisolone administration in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1982;41(5):447-52.
52. Chikanza IC. Mechanisms of corticosteroid resistance in rheumatoid arthritis: a putative role for the corticosteroid receptor beta isoform. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;966:39-48.
53. Molijn GJ, Spek JJ, van Uffelen JC, de Jong FH, Brinkmann AO, Bruining HA, et al. Differential adaptation of glucocorticoid sensitivity of peripheral blood mononuclear leukocytes in patients with sepsis or septic shock. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(6):1799-803.
54. Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis: 2001 update. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Arthritis Rheum.* 2001;44(7):1496-503.
55. Dekhuijzen PN, Decramer M. Steroid-induced myopathy and its significance to respiratory disease: a known disease rediscovered. *Eur Respir J.* 1992;5(8):997-1003.
56. Garcia Rodriguez LA, Hernandez-Diaz S. The risk of upper gastrointestinal complications associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, glucocorticoids, acetaminophen, and combinations of these agents. *Arthritis Res.* 2001;3(2):98-101.
57. Piper JM, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Corticosteroid use and peptic ulcer disease: role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Intern Med.* 1991;114(9):735-40.
58. Saab S, Corr MP, Weisman MH. Corticosteroids and systemic lupus erythematosus pancreatitis: a case series. *J Rheumatol.* 1998;25(4):801-6.
59. Stuck AE, Minder CE, Frey FJ. Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids. *Rev Infect Dis.* 1989;11(6):954-63.
60. Klein BE, Klein R, Lee KE, Danforth LG. Drug use and five-year incidence of age-related cataracts: The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 2001;108(9):1670-4.
61. Carnahan MC, Goldstein DA. Ocular complications of topical, peri-ocular, and systemic corticosteroids. *Curr Opin Ophthalmol.* 2000;11(6):478-83.
62. Tripathi RC, Parapuram SK, Tripathi BJ, Zhong Y, Chalam KV.

- Corticosteroids and glaucoma risk. *Drugs Aging*. 1999;15(6):439-50.
63. Oelkers W. Adrenal insufficiency. *N Engl J Med*. 1996;335(16):1206-12.
 64. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 5-year period. A multicenter prospective study of 1,000 patients. European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore)*. 1999;78(3):167-75.
 65. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82(5):299-308.
 66. Pistiner M, Wallace DJ, Nessim S, Metzger AL, Klinenberg JR. Lupus erythematosus in the 1980s: a survey of 570 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 1991;21(1):55-64.
 67. Rynes RI. Antimalarial drugs in the treatment of rheumatological diseases. *Br J Rheumatol*. 1997;36(7):799-805.
 68. Maksymowych W, Russell AS. Antimalarials in rheumatology: efficacy and safety. *Semin Arthritis Rheum*. 1987;16(3):206-21.
 69. Tsakonas E, Joseph L, Esdaile JM, Choquette D, Senecal JL, Cividino A, et al. A long-term study of hydroxychloroquine withdrawal on exacerbations in systemic lupus erythematosus. The Canadian Hydroxychloroquine Study Group. *Lupus*. 1998;7(2):80-5.
 70. Wallace DJ, Metzger AL, Stecher VJ, Turnbull BA, Kern PA. Cholesterol-lowering effect of hydroxychloroquine in patients with rheumatic disease: reversal of deleterious effects of steroids on lipids. *Am J Med*. 89. United States 1990. p. 322-6.
 71. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB, Yuen K, Hallett D, Bruce IN. The cholesterol lowering effect of antimalarial drugs is enhanced in patients with lupus taking corticosteroid drugs. *J Rheumatol*. 1999;26(2):325-30.
 72. Espinola RG, Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN. Hydroxychloroquine reverses platelet activation induced by human IgG antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost*. 2002;87(3):518-22.
 73. Wallace DJ. Does hydroxychloroquine sulfate prevent clot formation in systemic lupus erythematosus? *Arthritis Rheum*. 1987;30(12):1435-6.
 74. Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, Sammaritano L, Lockshin MD. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(8):924-9.
 75. Fessler BJ, Alarcon GS, McGwin G, Jr., Roseman J, Bastian HM, Friedman

AW, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: XVI. Association of hydroxychloroquine use with reduced risk of damage accrual. *Arthritis Rheum.* 2005;52(5):1473-80.

76. Carneiro JR, Sato EI. Double blind, randomized, placebo controlled clinical trial of methotrexate in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1999;26(6):1275-9.

77. Fortin PR, Abrahamowicz M, Ferland D, Lacaille D, Smith CD, Zummer M. Steroid-sparing effects of methotrexate in systemic lupus erythematosus: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2008;59(12):1796-804.

78. Tam LS, Li EK, Wong CK, Lam CW, Szeto CC. Double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study of leflunomide in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13(8):601-4.

79. Hahn BH, Kantor OS, Osterland CK. Azathioprine plus prednisone compared with prednisone alone in the treatment of systemic lupus erythematosus. Report of a prospective controlled trial in 24 patients. *Ann Intern Med.* 1975;83(5):597-605.

80. Contreras G, Pardo V, Leclercq B, Lenz O, Tozman E, O'Nan P, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med.* 2004;350(10):971-80.

81. Chan TM, Tse KC, Tang CS, Mok MY, Li FK. Long-term study of mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(4):1076-84.

82. Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C, Kim MY, Buyon J, Merrill JT, et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med.* 2005;353(21):2219-28.

83. Zhu B, Chen N, Lin Y, Ren H, Zhang W, Wang W, et al. Mycophenolate mofetil in induction and maintenance therapy of severe lupus nephritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(7):1933-42.

84. Austin HA, 3rd, Klippel JH, Balow JE, le Riche NG, Steinberg AD, Plotz PH, et al. Therapy of lupus nephritis. Controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N Engl J Med.* 1986;314(10):614-9.

85. Illei GG, Austin HA, Crane M, Collins L, Gourley MF, Yarboro CH, et al. Combination therapy with pulse cyclophosphamide plus pulse methylprednisolone improves long-term renal outcome without adding toxicity in patients with lupus nephritis. *Ann Intern Med.* 2001;135(4):248-57.

86. Stojanovich L, Stojanovich R, Kostich V, Dzjolic E. Neuropsychiatric lupus favourable response to low dose i.v. cyclophosphamide and prednisolone (pilot study). *Lupus.* 2003;12(1):3-7.

87. Petri M, Brodsky RA, Jones RJ, Gladstone D, Fillius M, Magder LS. High-dose cyclophosphamide versus monthly intravenous cyclophosphamide for systemic lupus erythematosus: a prospective randomized trial. *Arthritis Rheum.* 2010;62(5):1487-93.
88. Gonzalez-Lopez L, Cardona-Munoz EG, Celis A, Garcia-de la Torre I, Orozco-Barocio G, Salazar-Paramo M, et al. Therapy with intermittent pulse cyclophosphamide for pulmonary hypertension associated with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13(2):105-12.
89. Barile-Fabris L, Ariza-Andraca R, Olguin-Ortega L, Jara LJ, Fraga-Mouret A, Miranda-Limon JM, et al. Controlled clinical trial of IV cyclophosphamide versus IV methylprednisolone in severe neurological manifestations in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(4):620-5.
90. Boumpas DT, Austin HA, 3rd, Vaughan EM, Yarboro CH, Klippel JH, Balow JE. Risk for sustained amenorrhea in patients with systemic lupus erythematosus receiving intermittent pulse cyclophosphamide therapy. *Ann Intern Med.* 1993;119(5):366-9.
91. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Ramon Garrido E, Danieli MG, et al. The 10-year follow-up data of the Euro-Lupus Nephritis Trial comparing low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Ann Rheum Dis.* 2009.
92. Merrill JT, Burgos-Vargas R, Westhovens R, Chalmers A, D'Cruz D, Wallace DJ, et al. The efficacy and safety of abatacept in patients with non-life-threatening manifestations of systemic lupus erythematosus: results of a twelve-month, multicenter, exploratory, phase IIb, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2010;62(10):3077-87.
93. Boumpas DT, Furie R, Manzi S, Illei GG, Wallace DJ, Balow JE, et al. A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(3):719-27.
94. Kalunian KC, Davis JC, Jr., Merrill JT, Totoritis MC, Wofsy D. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2002;46(12):3251-8.
95. Sanz I, Lee FE, Medscape. B cells as therapeutic targets in SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(6):326-37.
96. Wallace DJ, Stohl W, Furie RA, Lisse JR, McKay JD, Merrill JT, et al. A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009;61(9):1168-78.

97. Jacobi AM, Huang W, Wang T, Freimuth W, Sanz I, Furie R, et al. Effect of long-term belimumab treatment on B cells in systemic lupus erythematosus: extension of a phase II, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Arthritis Rheum.* 2010;62(1):201-10.
98. Halpern WG, Lappin P, Zanardi T, Cai W, Corcoran M, Zhong J, et al. Chronic administration of belimumab, a BLYS antagonist, decreases tissue and peripheral blood B-lymphocyte populations in cynomolgus monkeys: pharmacokinetic, pharmacodynamic, and toxicologic effects. *Toxicol Sci.* 2006;91(2):586-99.
99. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, et al. BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science.* 1999;285(5425):260-3.
100. Cancro MP, D'Cruz DP, Khamashta MA. The role of B lymphocyte stimulator (BLYS) in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 2009;119(5):1066-73.
101. Cheema GS, Roschke V, Hilbert DM, Stohl W. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2001;44(6):1313-9.
102. Zhang J, Roschke V, Baker KP, Wang Z, Alarcon GS, Fessler BJ, et al. Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2001;166(1):6-10.
103. Petri M, Stohl W, Chatham W, McCune WJ, Chevrier M, Ryel J, et al. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2453-9.
104. Navarra SV, Guzman RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2011;377(9767):721-31.
105. Furie R, Petri M, Zamani O, Cervera R, Wallace DJ, Tegzova D, et al. A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63(12):3918-30.
106. Manzi S, Sanchez-Guerrero J, Merrill JT, Furie R, Gladman D, Navarra SV, et al. Effects of belimumab, a B lymphocyte stimulator-specific inhibitor, on disease activity across multiple organ domains in patients with systemic lupus erythematosus: combined results from two phase III trials. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(11):1833-8.
107. Dooley MA, Houssiau F, Aranow C, D'Cruz DP, Askanase A, Roth DA, et al. Effect of belimumab treatment on renal outcomes: results from the phase 3 belimumab clinical trials in patients with SLE. *Lupus.* 2013;22(1):63-72.

108. Grondal G, Gunnarsson I, Ronnelid J, Rogberg S, Klareskog L, Lundberg I. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18(5):565-70.
109. Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol*. 1991;147(1):117-23.
110. Chun HY, Chung JW, Kim HA, Yun JM, Jeon JY, Ye YM, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol*. 2007;27(5):461-6.
111. Peterson E, Robertson AD, Emlen W. Serum and urinary interleukin-6 in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1996;5(6):571-5.
112. Mihara M, Nishimoto N, Ohsugi Y. The therapy of autoimmune diseases by anti-interleukin-6 receptor antibody. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5(5):683-90.
113. Shirota Y, Yarboro C, Fischer R, Pham TH, Lipsky P, Illei GG. Impact of anti-interleukin-6 receptor blockade on circulating T and B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(1):118-28.
114. Illei GG, Shirota Y, Yarboro CH, Daruwalla J, Tackey E, Takada K, et al. Tocilizumab in systemic lupus erythematosus: data on safety, preliminary efficacy, and impact on circulating plasma cells from an open-label phase I dosage-escalation study. *Arthritis Rheum*. 2010;62(2):542-52.
115. Smolen JS, Beaulieu A, Rubbert-Roth A, Ramos-Remus C, Rovensky J, Alecock E, et al. Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet*. 2008;371(9617):987-97.
116. Choy EH, Isenberg DA, Garrood T, Farrow S, Ioannou Y, Bird H, et al. Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Arthritis Rheum*. 2002;46(12):3143-50.
117. Grillo-Lopez AJ. Rituximab: an insider's historical perspective. *Semin Oncol*. 2000;27(6 Suppl 12):9-16.
118. Wilson WH. Chemotherapy sensitization by rituximab: experimental and clinical evidence. *Semin Oncol*. 2000;27(6 Suppl 12):30-6.
119. Sfrikakis PP, Boletis JN, Lionaki S, Vigklis V, Fragiadaki KG, Iniotaki A, et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52(2):501-13.
120. Weiner GJ. Rituximab: mechanism of action. *Semin Hematol*.

2010;47(2):115-23.

121. Hamaguchi Y, Uchida J, Cain DW, Venturi GM, Poe JC, Haas KM, et al. The peritoneal cavity provides a protective niche for B1 and conventional B lymphocytes during anti-CD20 immunotherapy in mice. *J Immunol*. 2005;174(7):4389-99.

122. Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Sanz I, Rosenblatt J, et al. The relationship of FcγRIIIa genotype to degree of B cell depletion by rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2003;48(2):455-9.

123. Anolik JH, Barnard J, Owen T, Zheng B, Kemshetti S, Looney RJ, et al. Delayed memory B cell recovery in peripheral blood and lymphoid tissue in systemic lupus erythematosus after B cell depletion therapy. *Arthritis Rheum*. 2007;56(9):3044-56.

124. Sabahi R, Anolik JH. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. *Drugs*. 2006;66(15):1933-48.

125. Marengo JL, Fernandez-Nebro A, en nombre de L. [Use of rituximab in the treatment of lupus patients. The LESIMAB database]. *Reumatol Clin*. 2010;6S2:28-33.

126. Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, Ehrenstein MR, Isenberg DA. An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2002;46(10):2673-7.

127. Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(12):1542-5.

128. Gottenberg JE, Guillevin L, Lambotte O, Combe B, Allanore Y, Cantagrel A, et al. Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(6):913-20.

129. Marks SD, Patey S, Brogan PA, Hasson N, Pilkington C, Woo P, et al. B lymphocyte depletion therapy in children with refractory systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005;52(10):3168-74.

130. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, et al. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(2):176-82.

131. Vigna-Perez M, Hernandez-Castro B, Paredes-Saharopulos O, Portales-Perez D, Baranda L, Abud-Mendoza C, et al. Clinical and immunological effects of Rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(3):R83.

132. Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR. Long-term comparison of

rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: Remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum.* 2006;54(9):2970-82.

133. Cambridge G, Leandro MJ, Teodorescu M, Manson J, Rahman A, Isenberg DA, et al. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: effect on autoantibody and antimicrobial antibody profiles. *Arthritis Rheum.* 2006;54(11):3612-22.

134. Garcia-Hernandez FJ, Diaz-Cobos C, Callejas-Rubio JL, Ocana-Medina C, Ortego-Centeno N, Sanchez-Roman J, et al. [Experience with rituximab in the treatment of systemic erythematosus lupus]. *Reumatol Clin.* 2006;2(1):23-30.

135. Ng KP, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Cambridge G, Isenberg DA. Repeated B cell depletion in treatment of refractory systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(7):942-5.

136. Ng KP, Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein M, Isenberg DA. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: long-term follow-up and predictors of response. *Ann Rheum Dis.* 66. England2007. p. 1259-62.

137. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nakayamada S, et al. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(4):470-5.

138. Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Nishimoto N, Miyasaka N, Sumida T, et al. A multicenter phase I/II trial of rituximab for refractory systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol.* 2007;17(3):191-7.

139. Gunnarsson I, Sundelin B, Jonsdottir T, Jacobson SH, Henriksson EW, van Vollenhoven RF. Histopathologic and clinical outcome of rituximab treatment in patients with cyclophosphamide-resistant proliferative lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(4):1263-72.

140. Jonsdottir T, Gunnarsson I, Risselada A, Henriksson EW, Klareskog L, van Vollenhoven RF. Treatment of refractory SLE with rituximab plus cyclophosphamide: clinical effects, serological changes, and predictors of response. *Ann Rheum Dis.* 67. England2008. p. 330-4.

141. Tamimoto Y, Horiuchi T, Tsukamoto H, Otsuka J, Mitoma H, Kimoto Y, et al. A dose-escalation study of rituximab for treatment of systemic lupus erythematosus and Evans' syndrome: immunological analysis of B cells, T cells and cytokines. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47(6):821-7.

142. Cambridge G, Isenberg DA, Edwards JC, Leandro MJ, Migone TS, Teodorescu M, et al. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: relationships among serum B lymphocyte stimulator levels, autoantibody profile and clinical response. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(7):1011-6.

143. Albert D, Dunham J, Khan S, Stansberry J, Kolasinski S, Tsai D, et al.

Variability in the biological response to anti-CD20 B cell depletion in systemic lupus erythaematosus. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(12):1724-31.

144. Sutter JA, Kwan-Morley J, Dunham J, Du YZ, Kamoun M, Albert D, et al. A longitudinal analysis of SLE patients treated with rituximab (anti-CD20): factors associated with B lymphocyte recovery. *Clin Immunol.* 2008;126(3):282-90.

145. Lu TY, Ng KP, Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein M, et al. A retrospective seven-year analysis of the use of B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus at University College London Hospital: the first fifty patients. *Arthritis Rheum.* 2009;61(4):482-7.

146. Reynolds JA, Toescu V, Yee CS, Prabu A, Situnayake D, Gordon C. Effects of rituximab on resistant SLE disease including lung involvement. *Lupus.* 2009;18(1):67-73.

147. Lateef A, Lahiri M, Teng GG, Vasoo S. Use of rituximab in the treatment of refractory systemic lupus erythematosus: Singapore experience. *Lupus.* 2010.

148. Garcia-Carrasco M, Mendoza-Pinto C, Sandoval-Cruz M, Soto-Vega E, Beltran-Castillo A, Jimenez-Hernandez M, et al. Anti-CD20 therapy in patients with refractory systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 52 Hispanic patients. *Lupus.* 2009.

149. Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum.* 2010;62(1):222-33.

150. Catapano F, Chaudhry AN, Jones RB, Smith KG, Jayne DW. Long-term efficacy and safety of rituximab in refractory and relapsing systemic lupus erythematosus. *Nephrol Dial Transplant.* 2010.

151. Terrier B, Amoura Z, Ravaud P, Hachulla E, Jouenne R, Combe B, et al. Safety and efficacy of rituximab in systemic lupus erythematosus: results from 136 patients from the French AutoImmunity and Rituximab registry. *Arthritis Rheum.* 2010;62(8):2458-66.

152. Rovin BH, Furie R, Latinis K, Looney RJ, Fervenza FC, Sanchez-Guerrero J, et al. Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: the Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study. *Arthritis Rheum.* 2012;64(4):1215-26.

153. Coca A, Sanz I. Updates on B-cell immunotherapies for systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2012;24(5):451-6.

154. Diaz-Lagares C, Croca S, Sangle S, Vital EM, Catapano F, Martinez-Berriotxo A, et al. Efficacy of rituximab in 164 patients with biopsy-proven lupus nephritis: pooled data from European cohorts. *Autoimmun Rev.* 2012;11(5):357-64.

155. Murray E, Perry M. Off-label use of rituximab in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Clin Rheumatol*. 2010.
156. Pinto L, Velasquez C, Prieto C, Mestra L, Forero E, Marquez J. Rituximab induces a rapid and sustained remission in Colombian patients with severe and refractory systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011;20:1219-26.
157. Sfikakis PP, Boletis JN, Tsokos GC. Rituximab anti-B-cell therapy in systemic lupus erythematosus: pointing to the future. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17(5):550-7.
158. Garcia-Carrasco M, Mendoza-Pinto C, Sandoval-Cruz M, Soto-Vega E, Beltran-Castillo A, Jimenez-Hernandez M, et al. Anti-CD20 therapy in patients with refractory systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 52 Hispanic patients. *Lupus*. 2010;19(2):213-9.
159. Lindholm C, Borjesson-Asp K, Zendjanchi K, Sundqvist AC, Tarkowski A, Bokarewa M. Longterm clinical and immunological effects of anti-CD20 treatment in patients with refractory systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2008;35(5):826-33.
160. Chen H, Zheng W, Su J, Xu D, Wang Q, Leng X, et al. Low-dose rituximab therapy for refractory thrombocytopenia in patients with systemic lupus erythematosus--a prospective pilot study. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(9):1640-4.
161. Vesely SK, Perdue JJ, Rizvi MA, Terrell DR, George JN. Management of adult patients with persistent idiopathic thrombocytopenic purpura following splenectomy: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2004;140(2):112-20.
162. Garcia Hernandez FJ, Ocana Medina C, Gonzalez Leon R, Garrido Rasco R, Colorado Bonilla R, Castillo Palma MJ, et al. [Rituximab for treatment of patients with systemic autoimmune diseases]. *Med Clin (Barc)*. 2007;128(12):458-62.
163. Li EK, Tam LS, Zhu TY, Li M, Kwok CL, Li TK, et al. Is combination rituximab with cyclophosphamide better than rituximab alone in the treatment of lupus nephritis? *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(8):892-8.
164. Turner-Stokes T, Lu TY, Ehrenstein MR, Giles I, Rahman A, Isenberg DA. The efficacy of repeated treatment with B-cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: an evaluation. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(8):1401-8.
165. Molloy ES, Calabrese LH. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: evolving role of biologic therapies. *Arthritis Rheum*. 2012;64(9):3043-51.
166. Vital EM, Dass S, Emery P. Concomitant cyclophosphamide and oral immunosuppressants with rituximab for systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2012.

167. Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD, Hunter ZR, Ciccarelli BT, Verselis S, et al. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the Fc{gamma}RIIIa-158 V/V and V/F polymorphism. *Blood*. 2007;110(7):2561-4.
168. Seror R, Sordet C, Guillevin L, Hachulla E, Masson C, Ittah M, et al. Tolerance and efficacy of rituximab and changes in serum B cell biomarkers in patients with systemic complications of primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(3):351-7.
169. Listing J, Strangfeld A, Kary S, Rau R, von Hinueber U, Stoyanova-Scholz M, et al. Infections in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic agents. *Arthritis Rheum*. 2005;52(11):3403-12.
170. Dixon WG, Watson K, Lunt M, Hyrich KL, Silman AJ, Symmons DP. Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8):2368-76.
171. Cartron G, Watier H, Golay J, Solal-Celigny P. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood*. 2004;104(9):2635-42.
172. Di Gaetano N, Cittera E, Nota R, Vecchi A, Grieco V, Scanziani E, et al. Complement activation determines the therapeutic activity of rituximab in vivo. *J Immunol*. 2003;171(3):1581-7.
173. Tedder TF, Tuscano J, Sato S, Kehrl JH. CD22, a B lymphocyte-specific adhesion molecule that regulates antigen receptor signaling. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:481-504.
174. Wallace DJ, Gordon C, Strand V, Hobbs K, Petri M, Kalunian K, et al. Efficacy and safety of epratuzumab in patients with moderate/severe flaring systemic lupus erythematosus: results from two randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre studies (ALLEVIATE) and follow-up. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(7):1313-22.
175. Wallace DJ, Kalunian K, Petri MA, Strand V, Houssiau FA, Pike M, et al. Efficacy and safety of epratuzumab in patients with moderate/severe active systemic lupus erythematosus: results from EMBLEM, a phase IIb, randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre study. *Ann Rheum Dis*. 2013.
176. Leonard JP, Coleman M, Ketas J, Ashe M, Fiore JM, Furman RR, et al. Combination antibody therapy with epratuzumab and rituximab in relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5044-51.
177. Leonard JP, Schuster SJ, Emmanouilides C, Couture F, Teoh N, Wegener WA, et al. Durable complete responses from therapy with combined epratuzumab and rituximab: final results from an international multicenter, phase 2 study in recurrent,

indolent, non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2008;113(10):2714-23.

178. Carbonatto M, Yu P, Bertolino M, Vigna E, Steidler S, Fava L, et al. Nonclinical safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of atacicept. *Toxicol Sci*. 2008;105(1):200-10.

179. Ginzler EM, Wax S, Rajeswaran A, Copt S, Hillson J, Ramos E, et al. Atacicept in combination with MMF and corticosteroids in lupus nephritis: results of a prematurely terminated trial. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(1):R33.

180. Mysler EF, Spindler AJ, Guzman R, Bijl M, Jayne D, Furie RA, et al. Efficacy and Safety of Ocrelizumab in Active Proliferative Lupus Nephritis: Results from the Randomized, Double-Blind Phase III BELONG Study. *Arthritis Rheum*. 2013.

181. Lee PY, Reeves WH. Type I interferon as a target of treatment in SLE. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006;6(4):323-30.

182. Petri M, Wallace DJ, Spindler A, Chindalore V, Kalunian K, Mysler E, et al. Sifalimumab, a human anti-interferon-alpha monoclonal antibody, in systemic lupus erythematosus: a phase I randomized, controlled, dose-escalation study. *Arthritis Rheum*. 2013;65(4):1011-21.

183. Rother RP, Mojcik CF, McCroskery EW. Inhibition of terminal complement: a novel therapeutic approach for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13(5):328-34.

184. Llorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C, Claret E, Jakez-Ocampo J, Cardiel MH, et al. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2000;43(8):1790-800.

185. Grammer AC, Slota R, Fischer R, Gur H, Girschick H, Yarboro C, et al. Abnormal germinal center reactions in systemic lupus erythematosus demonstrated by blockade of CD154-CD40 interactions. *J Clin Invest*. 2003;112(10):1506-20.

186. Iwai H, Abe M, Hirose S, Tsushima F, Tezuka K, Akiba H, et al. Involvement of inducible costimulator-B7 homologous protein costimulatory pathway in murine lupus nephritis. *J Immunol*. 2003;171(6):2848-54.

187. Merrell M, Shulman LE. Determination of prognosis in chronic disease, illustrated by systemic lupus erythematosus. *J Chronic Dis*. 1955;1(1):12-32.

188. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82(5):299-308.

189. Trends in deaths from systemic lupus erythematosus--United States, 1979-

1998. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;51(17):371-4.
190. Aranow C, Ginzler EM. Epidemiology of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2000;9(3):166-9.
191. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med*. 1976;60(2):221-5.
192. Petri M, Perez-Gutthann S, Spence D, Hochberg MC. Risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med*. 1992;93(5):513-9.
193. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA, Jr., Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol*. 1997;145(5):408-15.
194. Karen H Costenbader M, Peter H Schur M. Coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. In: Rose BD, editor. *UpToDate*. Waltham, MA: UpToDate; 2011.
195. Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore)*. 1989;68(3):141-50.
196. Bessant R, Hingorani A, Patel L, MacGregor A, Isenberg DA, Rahman A. Risk of coronary heart disease and stroke in a large British cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43(7):924-9.
197. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
198. Kerekes G, Soltesz P, Szucs G, Szamosi S, Der H, Szabo Z, et al. Effects of adalimumab treatment on vascular disease associated with early rheumatoid arthritis. *Isr Med Assoc J*. 2011;13(3):147-52.
199. Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibanez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus: the Toronto Risk Factor Study. *Arthritis Rheum*. 2003;48(11):3159-67.
200. Bultink IE, Turkstra F, Diamant M, Dijkmans BA, Voskuyl AE. Prevalence of and risk factors for the metabolic syndrome in women with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(1):32-8.
201. Telles R, Lanna C, Ferreira G, Ribeiro A. Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with traditional risk factors for coronary heart disease and lupus characteristics. *Lupus*. 19. England2010. p. 803-9.

202. Esdaile JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T, Li Y, Panaritis C, du Berger R, et al. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2001;44(10):2331-7.
203. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349(25):2399-406.
204. El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y, Durrington PN, Mackness M, Walker M, et al. Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation.* 2004;110(4):399-404.
205. Kremers HM, Crowson CS, Thorneau TM, Roger VL, Gabriel SE. High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2268-74.
206. Frostegard J. SLE, atherosclerosis and cardiovascular disease. *J Intern Med.* 2005;257(6):485-95.
207. Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, Shintani A, Stanley E, Raggi P, et al. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J Rheumatol.* 2006;33(3):539-45.
208. Roifman I, Beck PL, Anderson TJ, Eisenberg MJ, Genest J. Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review. *Can J Cardiol.* 2011;27(2):174-82.
209. Torzewski M, Reifenberg K, Cheng F, Wiese E, Kupper I, Crain J, et al. No effect of C-reactive protein on early atherosclerosis in LDLR-/- / human C-reactive protein transgenic mice. *Thromb Haemost.* 2008;99(1):196-201.
210. Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 1996;348(9035):1120-4.
211. Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus.* 1997;6(6):533-9.
212. Svenungsson E, Gunnarsson I, Fei GZ, Lundberg IE, Klareskog L, Frostegard J. Elevated triglycerides and low levels of high-density lipoprotein as markers of disease activity in association with up-regulation of the tumor necrosis factor alpha/tumor necrosis factor receptor system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2003;48(9):2533-40.
213. Urquizu-Padilla M, Balada E, Chacon P, Perez EH, Vilardell-Tarres M, Ordi-Ros J. Changes in lipid profile between flare and remission of patients with systemic lupus erythematosus: a prospective study. *J Rheumatol.* 36. Canada2009. p. 1639-45.

214. Sarkissian T, Beyene J, Feldman B, McCrindle B, Silverman ED. Longitudinal examination of lipid profiles in pediatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2007;56(2):631-8.
215. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J.* 1999;138(5 Pt 2):S419-20.
216. Poon M, Gertz SD, Fallon JT, Wiegman P, Berman JW, Sarembock IJ, et al. Dexamethasone inhibits macrophage accumulation after balloon arterial injury in cholesterol fed rabbits. *Atherosclerosis.* 2001;155(2):371-80.
217. Panoulas VF, Douglas KM, Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Nightingale P, Kita MD, et al. Long-term exposure to medium-dose glucocorticoid therapy associates with. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47(1):72-5.
218. Da Silva JA, Jacobs JW, Kirwan JR, Boers M, Saag KG, Ines LB, et al. Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(3):285-93.
219. Kelly JJ, Mangos G, Williamson PM, Whitworth JA. Cortisol and hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl.* 1998;25:S51-6.
220. Jackson SH, Beevers DG, Myers K. Does long-term low-dose corticosteroid therapy cause hypertension? *Clin Sci (Lond).* 1981;61 Suppl 7:381s-3s.
221. Tayek JA, Katz J. Glucose production, recycling, Cori cycle, and gluconeogenesis in humans: relationship to serum cortisol. *Am J Physiol.* 1997;272(3 Pt 1):E476-84.
222. Delaunay F, Khan A, Cintra A, Davani B, Ling ZC, Andersson A, et al. Pancreatic beta cells are important targets for the diabetogenic effects of glucocorticoids. *J Clin Invest.* 1997;100(8):2094-8.
223. Ettinger WH, Goldberg AP, Applebaum-Bowden D, Hazzard WR. Dyslipoproteinemia in systemic lupus erythematosus. Effect of corticosteroids. *Am J Med.* 1987;83(3):503-8.
224. Hadoke PW, Iqbal J, Walker BR. Therapeutic manipulation of glucocorticoid metabolism in cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2009;156(5):689-712.
225. Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, Gambari PF, Puato M, Ghirardello A, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(11):1071-7.
226. Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Heimburger M, Silveira A, Hamsten A, de Faire U, et al. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Circulation.* 2001;104(16):1887-93.
227. Wei L, MacDonald TM, Walker BR. Taking glucocorticoids by prescription is

associated with subsequent. *Ann Intern Med.* 2004;141(10):764-70.

228. Souverein PC, Berard A, Van Staa TP, Cooper C, Egberts AC, Leufkens HG, et al. Use of oral glucocorticoids and risk of cardiovascular and cerebrovascular. *Heart.* 2004;90(8):859-65.

229. Ruysen-Witrand A, Fautrel B, Saraux A, Le Loet X, Pham T. Cardiovascular risk induced by low-dose corticosteroids in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2011;78(1):23-30.

230. del Rincon I, O'Leary DH, Haas RW, Escalante A. Effect of glucocorticoids on the arteries in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50(12):3813-22.

231. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, et al. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349(25):2407-15.

232. Avina-Zubieta JA, Abrahamowicz M, Choi HK, Rahman MM, Sylvestre MP, Esdaile JM, et al. Risk of cerebrovascular disease associated with the use of glucocorticoids in. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(6):990-5.

233. Bernatsky S, Hudson M, Suissa S. Anti-rheumatic drug use and risk of hospitalization for congestive heart failure. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44(5):677-80.

234. Maradit Kremers H, Reinalda MS, Crowson CS, Davis JM, 3rd, Hunder GG, Gabriel SE. Glucocorticoids and cardiovascular and cerebrovascular events in polymyalgia. *Arthritis Rheum.* 2007;57(2):279-86.

235. Hafstrom I, Rohani M, Deneberg S, Wornert M, Jogestrand T, Frostegard J. Effects of low-dose prednisolone on endothelial function, atherosclerosis, and. *J Rheumatol.* 2007;34(9):1810-6.

236. Trelle S, Reichenbach S, Wandel S, Hildebrand P, Tschannen B, Villiger PM, et al. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: network meta-analysis. *Bmj.* 2011;342:c7086.

237. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med.* 2000;343(21):1520-8, 2 p following 8.

238. Solomon DH, Schneeweiss S, Glynn RJ, Kiyota Y, Levin R, Mogun H, et al. Relationship between selective cyclooxygenase-2 inhibitors and acute myocardial infarction in older adults. *Circulation.* 2004;109(17):2068-73.

239. Kimmel SE, Berlin JA, Reilly M, Jaskowiak J, Kishel L, Chittams J, et al. Patients exposed to rofecoxib and celecoxib have different odds of nonfatal myocardial infarction. *Ann Intern Med.* 2005;142(3):157-64.

240. Levesque LE, Brophy JM, Zhang B. The risk for myocardial infarction with cyclooxygenase-2 inhibitors: a population study of elderly adults. *Ann Intern Med.* 2005;142(7):481-9.
241. Graham DJ, Campen D, Hui R, Spence M, Cheetham C, Levy G, et al. Risk of acute myocardial infarction and sudden cardiac death in patients treated with cyclo-oxygenase 2 selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: nested case-control study. *Lancet.* 2005;365(9458):475-81.
242. Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, Quan H, Riddell R, Lanus A, et al. A randomized trial of rofecoxib for the chemoprevention of colorectal adenomas. *Gastroenterology.* 2006;131(6):1674-82.
243. Garner SE, Fidan DD, Frankish RR, Judd MG, Towheed TE, Wells G, et al. Rofecoxib for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005(1):Cd003685.
244. Kerr DJ, Dunn JA, Langman MJ, Smith JL, Midgley RS, Stanley A, et al. Rofecoxib and cardiovascular adverse events in adjuvant treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2007;357(4):360-9.
245. Zhang J, Ding EL, Song Y. Adverse effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on renal and arrhythmia events: meta-analysis of randomized trials. *Jama.* 2006;296(13):1619-32.
246. Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, Redston M, Solomon SD, Kim K, et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med.* 2006;355(9):873-84.
247. Solomon SD, Wittes J, Finn PV, Fowler R, Viner J, Bertagnolli MM, et al. Cardiovascular risk of celecoxib in 6 randomized placebo-controlled trials: the cross trial safety analysis. *Circulation.* 2008;117(16):2104-13.
248. Ott E, Nussmeier NA, Duke PC, Feneck RO, Alston RP, Snabes MC, et al. Efficacy and safety of the cyclooxygenase 2 inhibitors parecoxib and valdecoxib in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;125(6):1481-92.
249. Nussmeier NA, Whelton AA, Brown MT, Langford RM, Hoeft A, Parlow JL, et al. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac surgery. *N Engl J Med.* 2005;352(11):1081-91.
250. Reginster JY, Malmstrom K, Mehta A, Bergman G, Ko AT, Curtis SP, et al. Evaluation of the efficacy and safety of etoricoxib compared with naproxen in two, 138-week randomised studies of patients with osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(7):945-51.
251. Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, Whelton A, et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: A randomized controlled

trial. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. *Jama*. 2000;284(10):1247-55.

252. Sowers JR, White WB, Pitt B, Whelton A, Simon LS, Winer N, et al. The Effects of cyclooxygenase-2 inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory therapy on 24-hour blood pressure in patients with hypertension, osteoarthritis, and type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med*. 2005;165(2):161-8.

253. Cannon CP, Curtis SP, FitzGerald GA, Krum H, Kaur A, Bolognese JA, et al. Cardiovascular outcomes with etoricoxib and diclofenac in patients with. *Lancet*. 2006;368(9549):1771-81.

254. Solomon SD, McMurray JJ, Pfeffer MA, Wittes J, Fowler R, Finn P, et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal. *N Engl J Med*. 2005;352(11):1071-80.

255. Gislason GH, Jacobsen S, Rasmussen JN, Rasmussen S, Buch P, Friberg J, et al. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction. *Circulation*. 2006;113(25):2906-13.

256. Kearney PM, Baigent C, Godwin J, Halls H, Emberson JR, Patrono C. Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal. *Bmj*. 2006;332(7553):1302-8.

257. Brochier ML. Evaluation of flurbiprofen for prevention of reinfarction and reocclusion after. *Eur Heart J*. 1993;14(7):951-7.

258. Wasko MC, Hubert HB, Lingala VB, Elliott JR, Luggen ME, Fries JF, et al. Hydroxychloroquine and risk of diabetes in patients with rheumatoid arthritis. *JAMA*. 2007;298(2):187-93.

259. Bruce IN. 'Not only...but also': factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(12):1492-502.

260. Borba EF, Bonfa E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J Rheumatol*. 2001;28(4):780-5.

261. Cervera A, Espinosa G, Font J, Ingelmo M. Cardiac toxicity secondary to long term treatment with chloroquine. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(3):301.

262. Choi HK, Hernan MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet*. 2002;359(9313):1173-7.

263. Krishnan E, Lingala VB, Singh G. Declines in mortality from acute myocardial infarction in successive incidence and birth cohorts of patients with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2004;110(13):1774-9.

264. Subramaniam S, Marar T, Devi CS. Studies on the changes in plasma lipids and lipoproteins in CMF treated breast cancer patients. *Biochem Int.* 1991;24(6):1015-24.
265. Sazliyan S, Mohd Shahrir MS, Kong CT, Tan HJ, Hamidon BB, Azmi MT. Implications of immunosuppressive agents in cardiovascular risks and carotid intima media thickness among lupus nephritis patients. *Lupus.* 2011;20(12):1260-6.
266. Stojan G, Petri M. Atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2013.
267. Bartoloni E, Alunno A, Bistoni O, Gerli R. How early is the atherosclerotic risk in rheumatoid arthritis? *Autoimmun Rev.* 2010;9(10):701-7.
268. McMurray J, Abdullah I, Dargie HJ, Shapiro D. Increased concentrations of tumour necrosis factor in "cachectic" patients with severe chronic heart failure. *Br Heart J.* 1991;66(5):356-8.
269. Nakano M, Knowlton AA, Dibbs Z, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha confers resistance to hypoxic injury in the adult mammalian cardiac myocyte. *Circulation.* 1998;97(14):1392-400.
270. Schulz R, Heusch G. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors 1 and 2: Yin and Yang in myocardial infarction? *Circulation.* 119. United States 2009. p. 1355-7.
271. Deuchar GA, Opie LH, Lecour S. TNFalpha is required to confer protection in an in vivo model of classical ischaemic preconditioning. *Life Sci.* 2007;80(18):1686-91.
272. Carmona L, Descalzo MA, Perez-Pampin E, Ruiz-Montesinos D, Erra A, Cobo T, et al. All-cause and cause-specific mortality in rheumatoid arthritis are not greater than expected when treated with tumour necrosis factor antagonists. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(7):880-5.
273. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Miranda-Filloo JA, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Martín J. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Biomed Pharmacother.* 2006;60(10):673-7.
274. Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Garcia-Castelo A, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Gonzalez-Gay MA. Active but transient improvement of endothelial function in rheumatoid arthritis patients undergoing long-term treatment with anti-tumor necrosis factor alpha antibody. *Arthritis Rheum.* 2004;51(3):447-50.
275. Del Porto F, Lagana B, Lai S, Nofroni I, Tinti F, Vitale M, et al. Response to anti-tumour necrosis factor alpha blockade is associated with reduction of carotid intima-media thickness in patients with active rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(7):1111-5.

276. Wong M, Oakley SP, Young L, Jiang BY, Wierzbicki A, Panayi G, et al. Infliximab improves vascular stiffness in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(8):1277-84.
277. Maki-Petaja KM, Hall FC, Booth AD, Wallace SM, Yasmin, Bearcroft PW, et al. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity. *Circulation.* 2006;114(11):1185-92.
278. Galarrraga B, Khan F, Kumar P, Pullar T, Belch JJ. Etanercept improves inflammation-associated arterial stiffness in rheumatoid. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(11):1418-23.
279. Szekanecz Z, Kerekes G, Soltesz P. Vascular effects of biologic agents in RA and spondyloarthropathies. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(12):677-84.
280. Popa C, van den Hoogen FH, Radstake TR, Netea MG, Eijsbouts AE, den Heijer M, et al. Modulation of lipoprotein plasma concentrations during long-term anti-TNF therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(11):1503-7.
281. Channul J, Wu JJ, Dann FJ. Effects of tumor necrosis factor-alpha blockade on metabolic syndrome components. *Dermatol Ther.* 2009;22(1):61-73.
282. Listing J, Strangfeld A, Kekow J, Schneider M, Kapelle A, Wassenberg S, et al. Does tumor necrosis factor alpha inhibition promote or prevent heart failure in. *Arthritis Rheum.* 2008;58(3):667-77.
283. Lunt M, Watson KD, Dixon WG, Symmons DP, Hyrich KL. No evidence of association between anti-tumor necrosis factor treatment and. *Arthritis Rheum.* 2010;62(11):3145-53.
284. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation.* 2004;109(13):1594-602.
285. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation.* 2003;107(25):3133-40.
286. Arida A, Fragiadaki K, Giavri E, Sfrikakis PP. Anti-TNF agents for Behcet's disease: analysis of published data on 369 patients. *Semin Arthritis Rheum.* 2011;41(1):61-70.
287. Comarmond C, Plaisier E, Dahan K, Mirault T, Emmerich J, Amoura Z, et al. Anti TNF-alpha in refractory Takayasu's arteritis: cases series and review of the literature. *Autoimmun Rev.* 2012;11(9):678-84.

288. Mekinian A, Neel A, Sibilia J, Cohen P, Connault J, Lambert M, et al. Efficacy and tolerance of infliximab in refractory Takayasu arteritis: French multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(5):882-6.
289. Hoffman GS, Cid MC, Rendt-Zagar KE, Merkel PA, Weyand CM, Stone JH, et al. Infliximab for maintenance of glucocorticosteroid-induced remission of giant cell arteritis: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2007;146(9):621-30.
290. Martinez-Taboada VM, Rodriguez-Valverde V, Carreno L, Lopez-Longo J, Figueroa M, Belzunegui J, et al. A double-blind placebo controlled trial of etanercept in patients with giant cell arteritis and corticosteroid side effects. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(5):625-30.
291. Kume K, Amano K, Yamada S, Hatta K, Ohta H, Kuwaba N. Tocilizumab monotherapy reduces arterial stiffness as effectively as etanercept. *J Rheumatol*. 2011;38(10):2169-71.
292. Protogerou AD, Zampeli E, Fragiadaki K, Stamatelopoulos K, Papamichael C, Sfrikakis PP. A pilot study of endothelial dysfunction and aortic stiffness after interleukin-6. *Atherosclerosis*. 2011;219(2):734-6.
293. Schiff MH, Kremer JM, Jahreis A, Vernon E, Isaacs JD, van Vollenhoven RF. Integrated safety in tocilizumab clinical trials. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(5):R141.
294. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial. *Circulation*. 2000;101(15):1767-72.
295. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two. *PLoS Med*. 2008;5(4):e78.
296. Hingorani AD, Casas JP. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease. *Lancet*. 2012;379(9822):1214-24.
297. Kawashiri SY, Kawakami A, Yamasaki S, Imazato T, Iwamoto N, Fujikawa K, et al. Effects of the anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab, on serum lipid. *Rheumatol Int*. 2011;31(4):451-6.
298. Unizony S, Arias-Urdaneta L, Miloslavsky E, Arvikar S, Khosroshahi A, Keroack B, et al. Tocilizumab for the treatment of large-vessel vasculitis (giant cell arteritis). *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(11):1720-9.
299. Salvarani C, Magnani L, Catanoso M, Pipitone N, Versari A, Dardani L, et al. Tocilizumab: a novel therapy for patients with large-vessel vasculitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(1):151-6.
300. Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, Holden H, Francis SE, Holt CM. Interleukin-1 beta in coronary arteries of patients with ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16(8):1000-6.

301. Kamari Y, Werman-Venkert R, Shaish A, Werman A, Harari A, Gonen A, et al. Differential role and tissue specificity of interleukin-1 α gene expression in atherogenesis and lipid metabolism. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):31-8.
302. Voronov E, Shouval DS, Krelin Y, Cagnano E, Benharroch D, Iwakura Y, et al. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(5):2645-50.
303. Nicklin MJ, Hughes DE, Barton JL, Ure JM, Duff GW. Arterial inflammation in mice lacking the interleukin 1 receptor antagonist gene. *J Exp Med*. 2000;191(2):303-12.
304. Isoda K, Ohsuzu F. The effect of interleukin-1 receptor antagonist on arteries and cholesterol metabolism. *J Atheroscler Thromb*. 2006;13(1):21-30.
305. Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, Meisel S, Xu XO, Chai NN, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation*. 1999;99(24):3103-9.
306. Bujak M, Dobaczewski M, Chatila K, Mendoza LH, Li N, Reddy A, et al. Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling. *Am J Pathol*. 2008;173(1):57-67.
307. Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y, Sasayama S. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J*. 1994;72(6):561-6.
308. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science*. 1992;257(5068):387-9.
309. Meier CA, Bobbioni E, Gabay C, Assimacopoulos-Jeannet F, Golay A, Dayer JM. IL-1 receptor antagonist serum levels are increased in human obesity: a possible link to the resistance to leptin? *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(3):1184-8.
310. Patti G, D'Ambrosio A, Dobrina A, Dicuonzo G, Giansante C, Fiotti N, et al. Interleukin-1 receptor antagonist: a sensitive marker of instability in patients with coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2002;14(2):139-43.
311. Patti G, Mega S, Pasceri V, Nusca A, Giorgi G, Zardi EM, et al. Interleukin-1 receptor antagonist levels correlate with extent of myocardial loss in patients with acute myocardial infarction. *Clin Cardiol*. 2005;28(4):193-6.
312. Merhi-Soussi F, Kwak BR, Magne D, Chadjichristos C, Berti M, Pelli G, et al. Interleukin-1 plays a major role in vascular inflammation and atherosclerosis in male apolipoprotein E-knockout mice. *Cardiovasc Res*. 2005;66(3):583-93.
313. Abbate A, Kontos MC, Grizzard JD, Biondi-Zoccai GG, Van Tassell BW,

- Robati R, et al. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study). *Am J Cardiol*. 2010;105(10):1371-7.e1.
314. Nikolaidis LA. When cancer and heart failure cross paths: a case report of severe cardiorenal. *Congest Heart Fail*. 2001;7(4):223-7.
315. Kanamori H, Tsutsumi Y, Mori A, Kawamura T, Obara S, Shimoyama N, et al. Delayed reduction in left ventricular function following treatment of. *Cardiology*. 2006;105(3):184-7.
316. Arunprasath P, Gobu P, Dubashi B, Satheesh S, Balachander J. Rituximab induced myocardial infarction: A fatal drug reaction. *J Cancer Res Ther*. 7. India 2011. p. 346-8.
317. Millward PM, Bandarenko N, Chang PP, Stagg KF, Afenyi-Annan A, Hay SN, et al. Cardiogenic shock complicates successful treatment of refractory thrombotic. *Transfusion*. 2005;45(9):1481-6.
318. Siano M, Lerch E, Negretti L, Zucca E, Rodriguez-Abreu D, Oberson M, et al. A phase I-II study to determine the maximum tolerated infusion rate of rituximab. *Clin Cancer Res*. 2008;14(23):7935-9.
319. Kerekes G, Soltesz P, Der H, Veres K, Szabo Z, Vegvari A, et al. Effects of rituximab treatment on endothelial dysfunction, carotid atherosclerosis, and lipid profile in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2009;28(6):705-10.
320. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Vazquez-Rodriguez TR, Diaz-Varela N, Garcia-Quiroga H, Gonzalez-Gay MA. Short-term improvement of endothelial function in rituximab-treated rheumatoid. *Arthritis Rheum*. 2008;59(12):1821-4.
321. Mathieu S, Pereira B, Couderc M, Rabois E, Dubost JJ, Soubrier M. No significant changes in arterial stiffness in patients with ankylosing. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(1):204-9.
322. Pego-Reigosa JM, Lu TY, Fontanillo MF, del Campo-Perez V, Rahman A, Isenberg DA. Long-term improvement of lipid profile in patients with refractory systemic lupus erythematosus treated with B-cell depletion therapy: a retrospective observational study. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(4):691-6.
323. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med*. 2010;363(3):221-32.
324. Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, et al. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med*. 2010;363(3):211-20.

325. Smith RM, Jones RB, Guerry MJ, Laurino S, Catapano F, Chaudhry A, et al. Rituximab for remission maintenance in relapsing antineutrophil cytoplasmic. *Arthritis Rheum.* 2012;64(11):3760-9.
326. Guerry MJ, Brogan P, Bruce IN, D'Cruz DP, Harper L, Luqmani R, et al. Recommendations for the use of rituximab in anti-neutrophil cytoplasm. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51(4):634-43.
327. Shovman O, Levy Y, Gilburd B, Shoenfeld Y. Antiinflammatory and immunomodulatory properties of statins. *Immunol Res.* 2002;25(3):271-85.
328. Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation.* 2004;109(23 Suppl 1):III39-43.
329. Tu H, Li Q, Xiang S, Jiang H, Mao Y, Shou Z, et al. Dual effects of statins therapy in systemic lupus erythematosus and SLE-related atherosclerosis: the potential role for regulatory T cells. *Atherosclerosis.* 2012;222(1):29-33.
330. Khattri S, Zandman-Goddard G. Statins and autoimmunity. *Immunol Res.* 2013;56(2-3):348-57.
331. Soubrier M, Mathieu S, Hermet M, Makarawiez C, Bruckert E. Do all lupus patients need statins? *Joint Bone Spine.* 2013;80(3):244-9.
332. Ye Y, Zhao X, Xie H, Tian Z, Zhang S. Efficacy and safety of statins in the prevention of atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus - A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol.* 2013;167(1):301-3.
333. John SG, Thorn J, Sobonya R. Statins as a Potential Risk Factor for Autoimmune Diseases: A Case Report and Review. *Am J Ther.* 2013.
334. Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, Zampieri S, Arienti S, Sarzi-Puttini P, et al. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 2006;119(8):700-6.
335. Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G. Clinical outcome in 22 patients with rheumatoid arthritis treated with B lymphocyte depletion. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(10):883-8.
336. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama.* 2001;285(19):2486-97.
337. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. [ESH/ESC 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension]. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60(9):968.e1-94.
338. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010;33

Suppl 1:S62-9.

339. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-83.

340. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295-306.

341. Fernandez-Nebro A, Palacios-Munoz R, Gordillo J, Abarca-Costalago M, De Haro-Liger M, Rodriguez-Andreu J, et al. Chronic or recurrent headache in patients with systemic lupus erythematosus: a case control study. *Lupus.* 1999;8(2):151-6.

342. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(2):241-50.

343. Esteve-Vives J, Batlle-Gualda E, Reig A. Spanish version of the Health Assessment Questionnaire: reliability, validity and transcultural equivalency. Grupo para la Adaptacion del HAQ a la Poblacion Espanola. *J Rheumatol.* 1993;20(12):2116-22.

344. Buyon JP, Petri MA, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2005;142(12 Pt 1):953-62.

345. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, Sammaritano LR, et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2005;353(24):2550-8.

346. Brown EG, Wood L, Wood S. The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA). *Drug Saf.* 1999;20(2):109-17.

347. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2000;894:i-xii, 1-253.

348. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 1998;97(18):1837-47.

349. Favas C, Isenberg DA. B-cell-depletion therapy in SLE--what are the current prospects for its acceptance? *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(12):711-6.

350. Calvo-Alen J, Silva-Fernandez L, Ucar-Angulo E, Pego-Reigosa JM, Olive A, Martinez-Fernandez C, et al. SER consensus statement on the use of biologic therapy for systemic lupus erythematosus. *Reumatol Clin.* 2013;9(5):281-96.

351. Galarza-Maldonado C, Kourilovitch MR, Molineros JE, Cardiel MH, Zurita L, Soroka NF, et al. The administration of low doses of rituximab followed by hydroxychloroquine, prednisone and low doses of mycophenolate mofetil is an effective therapy in Latin American patients with active systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2010;10(2):108-11.
352. Kasitanon N, Fine DM, Haas M, Magder LS, Petri M. Hydroxychloroquine use predicts complete renal remission within 12 months among patients treated with mycophenolate mofetil therapy for membranous lupus nephritis. *Lupus.* 2006;15(6):366-70.
353. Turner-Stokes T, Lu TY, Ehrenstein MR, Giles I, Rahman A, Isenberg DA. The efficacy of repeated treatment with B-cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: an evaluation. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(8):1401-8.
354. Chambers SA, Allen E, Rahman A, Isenberg D. Damage and mortality in a group of British patients with systemic lupus erythematosus followed up for over 10 years. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(6):673-5.
355. FitzGerald JD, Grossman JM. Validity and reliability of retrospective assessment of disease activity and flare in observational cohorts of lupus patients. *Lupus.* 1999;8(8):638-44.
356. Kawai VK, Solus JF, Oeser A, Rho YH, Raggi P, Bian A, et al. Novel cardiovascular risk prediction models in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2011;20(14):1526-34.
357. Formiga F, Meco JF, Pinto X, Jacob J, Moga I, Pujol R. Lipid and lipoprotein levels in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2001;10(5):359-63.
358. Costenbader KH, Wright E, Liang MH, Karlson EW. Cardiac risk factor awareness and management in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2004;51(6):983-8.
359. Lindhardsen J, Ahlehoff O, Gislason GH, Madsen OR, Olesen JB, Torp-Pedersen C, et al. The risk of myocardial infarction in rheumatoid arthritis and diabetes mellitus: a Danish nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis.* 70. England2011. p. 929-34.
360. Petri MA, Kiani AN, Post W, Christopher-Stine L, Magder LS. Lupus Atherosclerosis Prevention Study (LAPS). *Ann Rheum Dis.* 2011;70(5):760-5.
361. Elliott JR, Manzi S. Cardiovascular risk assessment and treatment in systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23(4):481-94.
362. Lund FE, Garvy BA, Randall TD, Harris DP. Regulatory roles for cytokine-producing B cells in infection and autoimmune disease. *Curr Dir Autoimmun.* 2005;8:25-54.

363. Silverman GJ, Carson DA. Roles of B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2003;5 Suppl 4:S1-6.
364. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1999;107(2):119-25.
365. Gonzalez-Gay MA, De Matias JM, Gonzalez-Juanatey C, Garcia-Porrúa C, Sanchez-Andrade A, Martin J, et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(1):83-6.
366. Qin B, Qiu W, Avramoglu RK, Adeli K. Tumor necrosis factor-alpha induces intestinal insulin resistance and stimulates the overproduction of intestinal apolipoprotein B48-containing lipoproteins. *Diabetes.* 2007;56(2):450-61.
367. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med.* 1985;161(5):984-95.
368. Matsumura R, Umemiya K, Sugiyama T, Sueishi M, Umibe T, Ichikawa K, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy in patients with difficult-to-treat lupus nephritis: a prospective series of nine patients. *Clin Exp Rheumatol.* 27. Italy2009. p. 416-21.
369. Wu T, Xie C, Wang HW, Zhou XJ, Schwartz N, Calixto S, et al. Elevated urinary VCAM-1, P-selectin, soluble TNF receptor-1, and CXC chemokine ligand 16 in multiple murine lupus strains and human lupus nephritis. *J Immunol.* 179. United States2007. p. 7166-75.
370. Lobo RA, Skinner JB, Lippman JS, Cirillo SJ. Plasma lipids and desogestrel and ethinyl estradiol: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 1996;65(6):1100-9.

ANEXOS

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Criterios de clasificación SLICC(10)

Criterios Clínicos	Definición
Lupus cutáneo agudo	Rash malar lúpico (no si es lupus malar discoide) Lupus bulloso Necrosis epidérmica tóxica variante del LES Rash lúpico máculopapular Rash lúpico fotosensible, en ausencia de dermatomiositis Lupus cutáneo subagudo (psoriasiforme no indurado y/o lesiones policíclicas anulares que se resuelven sin dejar cicatriz, aunque ocasionalmente presentan despigmentación residual o telangiectasias)
Lupus cutáneo crónico	Rash discoide clásico: localizado (cabeza y cuello)/ generalizado Lupus hipertrófico (verrucooso) Paniculitis lúpica Lupus en mucosas Lupus tumidus Sabañones lúpicos (perniosis) Superposición lupus discoide/ liquen plano sobre elevado
Úlceras orales	Paladar, bucal, lengua o nasales (en ausencia de otras causas como vasculitis, sd.Behçet, infección (herpes), EII, artritis reactiva y comidas ácidas)
Alopecia no cicatricial	Adelgazamiento difuso o fragilidad capilar, con pelos rotos visibles (en ausencia de otras causas como alopecia areata, fármacos, ferropenia o alopecia androgénica)
Sinovitis	Inflamación, derrame o dolor en ≥ 2 articulaciones afectadas y ≥ 30 minutos de rigidez matutina
Serositis	Pleuritis típica de > 1 día de evolución o derrame pleural o roce pleural Dolor pericárdico típico (mejora al sentarse inclinándose hacia delante) de > 1 día de evolución o derrame pericárdico o roce pericárdico o pericarditis demostrada por ECG (en ausencia de otras causas como infección, uremia o pericarditis de Dressler)
Afectación renal	Cociente proteínas/creatinina (o proteinuria de 24 horas) equivalente a 500mg/24 horas o cilindros hemáticos
Afectación neurológica	Crisis Psicosis Mononeuritis múltiple (en ausencia de otras causas conocidas como vasculitis primaria) Mielitis Neuropatía periférica o craneal (en ausencia de otras causas conocidas como vasculitis primaria, infección y DM) Estado confusional agudo (en ausencia de otras causas, incluyendo tóxico-metabólicas, uremia y fármacos)
Anemia hemolítica	Anemia hemolítica
Leucopenia/ Linfopenia	Leucopenia $< 4000/\text{mm}^3$ en al menos una ocasión (en ausencia de otras causas conocidas como sd. Felty, fármacos e hipertensión portal) Linfopenia $< 1000/\text{mm}^3$ en al menos una ocasión (en ausencia de causas conocidas como corticoides, fármacos e infección)

Trombocitopenia	< 100.000/mm ³ en al menos una ocasión (en ausencia de causas conocidas como fármacos, hipertensión portal y PTT)
ANA	Por encima del valor de referencia del laboratorio
Anti-DNA	Por encima del valor de referencia del laboratorio, excepto ELISA: dos veces por encima del valor de referencia del laboratorio
Anti-Sm	Presencia de anticuerpos frente al antígeno nuclear Sm
AFF	AL RPR falsamente positivo Títulos medios o altos de anticuerpos anti-cardiolipina (IgA, IgG o IgM) Anti-β ₂ glicoproteína (IgA, IgG o IgM)
Hipo complementemia	Niveles bajos de C3, C4 o CH50
Test de Coombs directo	En ausencia de anemia hemolítica

AFF: anticuerpos antifosfolipídicos; AL: anticoagulante lúpico; ANA: anticuerpos antinucleares; Anti-DNA: anticuerpos frente al DNA; Anti-Sm: anticuerpos frente al antígeno Sm; C3: fracción C3 del complemento; C4: fracción C4 del complemento; CH50: niveles Ch50 del complemento; DM: diabetes mellitus; ECG: electrocardiograma; EII: enfermedad inflamatoria intestinal; IgA: inmunoglobulina A; IgG: inmunoglobulina G; IgM: inmunoglobulina M; LES: lupus eritematosos sistémico; PTT: púrpura trombocitopénica trombótica; sd: síndrome; RPR: reagina plasmática rápida; SLICC: “*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*”

Anexo 2.SLICCC/ACR Damage Index, SDI (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR damage index*)(16)

Item	Score
Ocular(ambos ojos, por evaluación clínica)	
Catarata ¹	1
Cambios en la retina ² o atrofia óptica	1
Neuropsiquiátrico	
Afectación cognitiva ³ (ej: déficit de memoria, dificultad en el cálculo, dificultad para la concentración, dificultad con el lenguaje escrito o hablado, deterioro en el nivel de adaptación) o psicosis mayor ⁴ .	1
Convulsiones ⁵ que requiriesen tratamiento durante 6 meses	1
Accidente cerebrovascular ⁶ (score 2 si > 1)	1 (2)
Neuropatía ⁷ craneal o periférica (se excluye neuropatía óptica)	1
Mielitis transversa ⁸	1
Renal	
Filtrado glomerular medido o calculado <50%	1
Proteinuria ≥ 3.5 gr/24horas	1
ó	
Enfermedad renal terminal (independientemente de diálisis o trasplante)	3
Pulmonar	
Hipertensión pulmonar (aumento del VD o refuerzo del P2)	1
Fibrosis pulmonar (examen físico o radiológico)	1
Pulmón encogido(rx)	1
Fibrosis pleural (rx)	1
Infarto pulmonar (rx)	1
Resección por causa distinta de neoplasia	1
Cardiovascular	
Angina o bypass coronario	1
Infarto de miocardio (score 2 si > 1)	1 (2)
Miocardiopatía (disfunción ventricular)	1
Enfermedad valvular (soplo diastólico o sistólico>3/6)	1
Pericarditis durante 6 meses o pericardiectomía	1
Sistema vascular periférica	
Claudicación durante 6 meses	1
Ulceración con pérdida de partes blandas	1
Pérdida de tejido significativa y permanente (ej: pérdida de dedos o miembros)	1 (2)

Item	Score
score 2 si > 1 localización	
Trombosis venosa con tumefacción, ulceración o éstasis venoso	1
Gastrointestinal	
Infarto o resección de duodeno “teerminal”, bazo, hígado, o vesícula biliar por cualquier causa (score 2 si > 1)	1 (2)
Insuficiencia mesentérica	1
Peritonitis crónica	1
Estenosis o cirugía del tracto gastrointestinal superior	1
Musculoesquelético	
Atrofia muscular o debilidad	1
Artritis erosiva o deformante (incluyendo deformidades reducibles y excluyendo necrosis avascular)	1
Osteoporosis con fractura o aplastamiento vertebral (excluyendo necrosis avascular)	1
Necrosis avascular (score 2 si > 1)	1 (2)
Osteomielitis	1
Piel	
Alopecia crónica cicatricial	1
Cicatrices extensas o paniculitis que no sea en el cuero cabelludo o en pulpejos	1
Ulceración cutánea (excluyendo trombosis) durante > 6 meses	1
Fallo gonadalprematuro	1
Diabetes (independientemente del tratamiento)	1
Malinidad (excluyendo displasia) score 2 si > 1	1 (2)

DAÑO: cambio irreversible, no relacionado con la actividad inflamatoria, ocurrido desde el diagnóstico de la enfermedad, verificado por la evaluación clínica y presente durante al menos 6 meses, a menos que fuese secundario a otro proceso. Los episodios repetidos deben sucederse con al menos 6 meses de intervalo para clasificarlos con score de 2. La misma lesión no puede puntuarse dos veces. ¹Catarata: opacidad de la lente en cualquier ojo, permanente, ya sea primaria o secundaria al tratamiento esteroideo, documentada por oftalmoscopio; ²Cambios en la retina: documentados por exámen oftalmoscópico, pueden ser un defecto en la visión o ceguera; ³Afectación cognitiva: déficit de la memoria, documentada por exámen clínico o por test neurocognitivos aceptados; ⁴Psicosis mayor: habilidad alterada para un normal equilibrio debido a razones psiquiátricas. Severa alteración de la percepción de la realidad, caracterizada por los siguientes hechos: ilusiones, alucinaciones (auditivas o visuales), incoherencias, marcada pérdida de la asociación, contenido pobre en el pensamiento, pensamiento ilógico, raro o desorganizado o pensamiento catatónico; ⁵Convulsiones: descarga eléctrica paroxística ocurrida en el cerebro y que produce alteraciones físicas características que incluyen movimientos tónicos y clónicos y ciertas alteraciones en el comportamiento. Solo las convulsiones que requieran tratamiento durante 6 meses serán consideradas como daño; ⁶Accidente cerebro vascular que produce clínica focal como paresia, debilidad, etc; ⁷Neuropatía: daño o afectación de un nervio craneal o periférico, excluyendo el nervio óptico, que produzca afectación motora o sensitiva; ⁸Mielitis transversa: debilidad o pérdida de la sensibilidad de las extremidades inferiores con pérdida del control del esfínter urinario o anal.

FORMULARIO DE EVALUACIÓN BILAG-2004			
PUNTUACIONES (últimas 4 semanas): 0 = AUSENTE; 1 = EN MEJORÍA; 2 = IGUAL; 3 = PEOR; 4 = NUEVO; 5 = NO RELACIONADO			
GENERAL		49. Taponamiento cardíaco	
1. Fiebre (contrastada) > 37,5°C		50. Derrame pleural con disnea	
2. Pérdida de peso no intencionada > 5%		51. Hemorragia pulmonar/ Vasculitis	
3. Linfadenopatía/ Esplenomegalia		52. Alveolitis intersticial/ Neumonitis	
4. Anorexia		53. Síndrome de pulmones arrugados	
MUCOCUTÁNEO		54. Aortitis	
5. Erupción cutánea grave		55. Vasculitis coronaria	
6. Erupción cutánea leve		GASTROINTESTINAL	
7. Angioedema grave		56. Peritonitis lúpica	
8. Angioedema leve		57. Serositis abdominal o ascitis	
9. Ulceración de las mucosas grave		58. Enteritis lúpica/ Colitis	
10. Ulceración de las mucosas leve		59. Malabsorción	
11. Paniculitis/ Lupus bulloso grave		60. Enteropatía pierde-proteínas	
12. Paniculitis/ Lupus bulloso leve		61. Pseudo-obstrucción intestinal	
13. Vasculitis cutánea grave/ Trombosis		62. Hepatitis lúpica	
14. Infartos digitales o vasculitis nodular		63. Colecistitis lúpica aguda	
15. Alopecia intensa		64. Pancreatitis lúpica aguda	
16. Alopecia leve		OFTALMOLÓGICO	
17. Eritema periungueal/ Sabañones		65. Inflamación de las órbitas/ Miositis/ Proptosis	
18. Hemorragias en astilla		66. Queratitis grave	
NEUROLÓGICO		67. Queratitis leve	
19. Meningitis aséptica		68. Uveítis anterior	
20. Vasculitis cerebral		69. Uveítis posterior/ Vasculitis retiniana grave	
21. Síndrome desmielinizante		70. Uveítis posterior/ Vasculitis retiniana leve	
22. Mielopatía		71. Epiescleritis	
23. Estado confusional agudo		72. Escleritis grave	
24. Psicosis		73. Escleritis leve	
25. Poliradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria aguda		74. Enfermedad vaso-oclusiva retiniana/ Coroidea	
26. Mononeuropatía (simple o múltiple)		75. Puntos algodinosos aislados (cuerpos citoides)	
27. Neuropatía craneal		76. Neuritis óptica	
28. Plexopatía		77. Neuropatía óptica anterior isquémica	
29. Polineuropatía		RENAL	
30. Convulsiones		78. Presión arterial sistólica (mm Hg)	
31. Status epiléptico		79. Presión arterial diastólica (mm Hg)	
32. Enfermedad cerebrovascular (no debida a vasculitis)		80. Hipertensión acelerada	S/N
33. Disfunción cognitiva		81. Tira reactiva de proteinuria (+=1, ++=2, +++=3)	
34. Trastornos del movimiento (Corea)		82. Cociente albúmina - creatinina en orina (mg/g)	
35. Trastornos del sistema nervioso autónomo		83. Cociente proteína - creatinina en orina (mg/g)	
36. Ataxia cerebelosa (aislada)		84. Proteínas en orina de 24 horas (g)	
37. Cefalea lúpica grave no remitente		85. Síndrome nefrótico	S/N
38. Cefalea por hipertensión intracraneal		86. Creatinina (plasma/suero) (mg/l)	
MUSCULOESQUELÉTICO		87. VFG ml/min, Aclaramiento de creatinina	
39. Miositis grave		88. Sedimento urinario activo	S/N
40. Miositis leve		89. Nefritis activa	S/N
41. Artritis grave		HEMATOLÓGICO	
42. Artritis moderada/ Tendinitis/ Tenosinovitis		90. Hemoglobina	
43. Artritis leve/ Artralgia/ Mialgia		91. Leucocitos totales ($\times 10^9/l$)	
CARDIORESPIRATORIO		92. Neutrófilos ($\times 10^9/l$)	
44. Miocarditis leve		93. Linfocitos ($\times 10^9/l$)	
45. Miocarditis/Endocarditis + fallo cardíaco		94. Plaquetas ($\times 10^9/l$)	
46. Arritmia		95. PTT	
47. Disfunción valvular nueva		96. Evidencia de hemólisis activa	S/N
48. Pleuritis/ Pericarditis		97. Test de Coombs positivo (aislada)	S/N

Valoración Global del Médico (VGM). Escala Visual Analógica



SELENA-SLEDAI INSTRUMENT SCORE MODIFICADO. Señala si el descriptor está presente en la visita o en los últimos 28 días
(validado para 10 días pero aceptable a 28 días)

Pe so	Seña la si pres ente	Descriptor	Definición
8	<input type="checkbox"/>	Convulsiones	Inicio reciente. Se excluyen causas metabólicas, infecciosas o fármacos.
8	<input type="checkbox"/>	Psicosis	Alteración de la capacidad funcional para la actividad normal por un trastorno intenso de la percepción de la realidad. Se incluyen alucinaciones, incoherencia, déficit marcado de asociación, empobrecimiento del contenido de los pensamientos, pensamiento ilógico marcado, conducta extraña, desorganizada o catatónica. Se excluyen las causas farmacológicas y la uremia.
8	<input type="checkbox"/>	Síndrome cerebral orgánico	Alteración de la función mental con deterioro de la orientación, la memoria u otras funciones intelectuales, con inicio rápido y características clínicas fluctuantes. Se incluye la obnubilación de la conciencia con disminución de la capacidad de concentrarse e incapacidad para mantener la atención más al menos dos de los siguientes: trastorno de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o somnolencia diurna, o aumento o disminución de la actividad psicomotora. Se excluyen las causas metabólicas, infecciosas o farmacológicas.
8	<input type="checkbox"/>	Trastorno visual	Cambios retinianos y oculares de LES. Se incluyen cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos o hemorragias en la coroides, o neuritis óptica (escleritis y epiescleritis son añadidos en SELENA-SLEDAI). Se excluyen las causas infecciosas o farmacológicas y la hipertensión.
8	<input type="checkbox"/>	Trastorno de nervios craneales	Nueva aparición de neuropatía motora o sensorial con afectación de nervios craneales. Incluye vértigo debido a lupus.
8	<input type="checkbox"/>	Cefalea lúpica	Cefalea persistente intensa; puede ser migrañosa, pero no debe responder a la analgesia con opiáceos.
8	<input type="checkbox"/>	ACV	Nueva aparición de accidentes cerebrovasculares. Se excluye la arteriosclerosis o HTA.
8	<input type="checkbox"/>	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos a la palpación en los dedos, infarto periungueal, hemorragias en astilla, o biopsia o angiograma indicativo de vasculitis.
4	<input type="checkbox"/>	Artritis	≥ 2 articulaciones (>2 articulaciones en SELENA-SLEDAI) con dolor y signos de inflamación (es decir, dolor a la palpación, tumefacción o derrame).
4	<input type="checkbox"/>	Miositis	Dolor o debilidad muscular proximal + elevación de CK o aldolasa, o cambios en el EMG, o biopsia con signos de miositis.
4	<input type="checkbox"/>	Cilindros urinarios	Cilindros hemo-granulares o de hematíes.
4	<input type="checkbox"/>	Hematuria	> 5 hematíes/car. Se excluyen cálculos, infecciones y otros.
4	<input type="checkbox"/>	Proteinuria	> 0,5 g/d. Nueva aparición o aumento reciente de >0,5 g/d. Si basal <0,5g/d, la PRU es contada SOLO cuando hay un incremento de 0,5g desde basal y sobrepase el límite de 0,5g/día. Una vez esto se ha documentado, no debería contar de nuevo hasta que vuelva a haber otro incremento ≥0,5g/d desde ese último punto. Si la orina basal era >0,5g/d se cuenta cuando hay un aumento de 0,5g desde la basal y a partir de entonces los incrementos deben ser siempre >0,5g/d para que vuelvan a contarse otra vez. Si la PRU disminuye durante el curso, la PRU volverá a contarse en el momento que aumente ≥0,5g/d desde el punto en que se redujo.
4	<input type="checkbox"/>	Piuria	> 5 leucocitos/car. Se excluyen las infecciones.
2	<input type="checkbox"/>	Rash	Rash lúpico de tipo inflamatorio en evolución.
2	<input type="checkbox"/>	Alopecia	Alopecia en placas o difusa en evolución debido a lupus.
2	<input type="checkbox"/>	Úlceras mucosas	Ulceraciones bucales o nasales en evolución.
2	<input type="checkbox"/>	Pleuritis	Dolor pleurítico clásico e intenso con roce pleural o derrame o nuevo engrosamiento pleural debido a lupus (hallazgo objetivo no es requerido en SELENA-SLEDAI).
2	<input type="checkbox"/>	Pericarditis	Dolor pericárdico y ≥ 1 signos: roce, derrame o confirmación ECC (hallazgos objetivo no es requerido en SELENA-SLEDAI).
2	<input type="checkbox"/>	Complemento bajo	Disminución del CH50, C3 o C4 por debajo del límite inferior del laboratorio.
2	<input type="checkbox"/>	Aumento de ADN	Unión > 25 % mediante el ensayo de Farr o por encima normal del laboratorio.
1	<input type="checkbox"/>	Fiebre	> 38°C. Se excluyen las causas infecciosas.
1	<input type="checkbox"/>	Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³ .
1	<input type="checkbox"/>	Leucopenia	< 3.000 leucocitos/mm ³ . Se excluyen las causas farmacológicas.
			PUNTUACIÓN TOTAL (Suma de todos los pesos asignados en cada descriptor que esté presente)



Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org


Experiencia con rituximab en el tratamiento de pacientes con lupus. La base de datos LESIMAB

Jose L. Marenco^a y Antonio Fernández-Nebro^{b,*}, en nombre de LESIMAB

^a Sección de Reumatología, Hospital Universitario Virgen de Valme, Sevilla, España

^b Servicio de Reumatología, Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Málaga, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 30 de mayo de 2010

Aceptado el 1 de junio de 2010

On-line el 4 de agosto de 2010

Palabras clave:

LESIMAB

Lupus

Rituximab

Anti-CD20

RESUMEN

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune sistémica que a menudo compromete la función de los órganos y reduce la supervivencia. Los avances en el diagnóstico y la terapéutica han mejorado su pronóstico a corto y medio plazo. No obstante, la mayoría de las mejoras terapéuticas proceden de avances alcanzados en otras áreas de la medicina y solo en los últimos años está cambiando esta tendencia. Lamentablemente el desarrollo de nuevos fármacos para el lupus se está enfrentando a unas dificultades especiales que han hecho que el desarrollo de rituximab en esta enfermedad haya sido detenido a pesar de los buenos resultados obtenidos en los estudios observacionales. La presente revisión analiza algunos de los aspectos que influyen en estas dificultades desde la perspectiva de LESIMAB una base de datos del grupo de trabajo EASSER.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Use of rituximab in the treatment of lupus patients. The LESIMAB database

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus is an autoimmune disease that may involve the function of organs and reduce the survival of patients. Advances in the diagnosis and treatment have improved the short-term prognosis. However, most therapeutic improvements come from progress in other areas of medicine and only in recent years is this trend changing. Unfortunately, the development of new drugs for lupus is facing specific difficulties and the development of rituximab in lupus has been stopped despite good results in the observational studies. This review examines some of the aspects that influence these difficulties from the perspective of the LESIMAB database.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune no órgano-específica relativamente poco frecuente que en no pocas ocasiones provoca graves complicaciones que comprometen la función de algunos órganos importantes y reducen la supervivencia de los pacientes¹.

La prevalencia del LES muestra una tendencia ascendente en las últimas décadas, según ha mejorado la capacidad diagnóstica. En general se acepta entre 40 y 150 casos por 100.000 habitantes, con notables diferencias raciales. El estudio EPISER obtuvo una frecuencia de 91 pacientes/100.000 habitantes (IC 95%: 30–390)². Aunque puede afectar a todos los grupos poblacionales, esta enfermedad afecta típicamente a mujeres (la proporción mujeres: hombres es 9–10:1) en edad fértil (el 75% tiene entre 16 y 55 años).

En el LES es característica la aparición de autoanticuerpos, entre los que destacan los antinucleares (ANA) y anti-DNA. Los primeros son esenciales para el diagnóstico, al estar presentes en prácticamente todos los pacientes y en general permanecen positivos a lo largo de toda la evolución. Los anti-DNA se asocian al grado de actividad inflamatoria de la enfermedad y determinadas complicaciones viscerales, especialmente nefritis y su disminución es una variable subrogada de la eficacia de un tratamiento.

La enfermedad resulta muy heterogénea en función de la frecuencia e intensidad de los brotes inflamatorios, así como por los órganos afectados. El pronóstico depende fundamentalmente del compromiso visceral, con las peores expectativas en la afectación renal y sistema nervioso central. La supervivencia de los pacientes con LES, tanto en adultos como en niños, ha mejorado drásticamente en las últimas décadas. En los años sesenta la supervivencia a los 5 años era del 50%, en los noventa del 80% y en los últimos años la supervivencia a los 10 años es

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: afnebro@gmail.com (A. Fernández-Nebro).

superior al 90%¹. A pesar de esta importante mejora a corto plazo, el pronóstico de la enfermedad a largo plazo esencialmente no ha cambiado demasiado, salvo por la mejora pronóstica relativa que ha supuesto la detección de casos benignos.

Manejo terapéutico del lupus

No existe un tratamiento definitivo para el LES y la respuesta es tan variable como las manifestaciones de la enfermedad. Los glucocorticoides son fármacos esenciales en el control de las manifestaciones clínicas, con los inconvenientes conocidos asociados a su uso prolongado.

De forma similar a la artritis reumatoide, utilizamos fármacos modificadores de la enfermedad (FARME). La hidroxicloroquina parece eficaz para reducir el número de brotes y para el tratamiento de las manifestaciones dérmicas y se recomienda su uso en la mayoría de pacientes con LES³. El metotrexato es útil en el control de las manifestaciones articulares y pacientes sin compromiso visceral. La leflunomida también ha sido utilizada de forma ocasional.

Los inmunosupresores se utilizan como ahorradores de glucocorticoides y en pacientes con compromiso visceral. Los más usados en LES son la azatioprina y el micofenolato mofetil, así como su metabolito activo, el ácido micofenólico.

La ciclosporina y el tacrolimus actúan inhibiendo la función de células T, ambos fármacos tienen una nefrotoxicidad notable, que limita su uso en LES.

La ciclofosfamida es muy eficaz en la inducción de remisión de manifestaciones severas, nefritis, neurolupus o anemia hemolítica. La pauta original NIH tiene un gran número de eventos adversos a corto y medio plazo, lo que ha motivado pautas (eurolupus) con reducción de dosis⁴. En todo caso existe una clara tendencia a limitar el uso de ciclofosfamida. En general se acepta que las complicaciones graves deben ser tratadas con una terapia de inducción enérgica, seguida de un tratamiento de mantenimiento con fármacos menos tóxicos, como azatioprina o micofenolato mofetil⁵. Dada la toxicidad de la ciclofosfamida en cuanto a esterilidad, infecciones o carcinogénesis, también se ha utilizado micofenolato para la fase de inducción⁶, con resultados similares en eficacia a los obtenidos con ciclofosfamida, al menos en determinados pacientes⁷.

Todo este arsenal terapéutico, unido a un diagnóstico más precoz y un mejor conocimiento de la enfermedad, ha permitido una mejoría notable en la calidad y esperanza de vida de los pacientes con LES. Determinados pacientes son refractarios a las medidas convencionales, sobre todo aquellos con compromiso renal o sistema nervioso central.

Tratamientos biológicos en LES

La experiencia favorable en AR con anti-TNF motivó su uso en LES, pero su capacidad de inducir autoinmunidad, ha limitado su empleo a casos concretos de LES, con predominio articular^{8,9}.

La inmunidad celular está alterada en el LES, existe un fallo en el reconocimiento de antígenos propios y un exceso en la producción de anticuerpos, por lo que resulta razonable utilizar ambas células T y B, como dianas terapéuticas¹⁰.

Los tratamientos con anticuerpos dirigidos a células T parecen descartados por efectos adversos, y la interacción T-B está siendo explorada con estudios clínicos controlados con CTLA4 Ig (abatacept). Los anticuerpos anti-CD154 se han asociado a un exceso de trombosis, por lo que ha sido descartada.

La célula B parece una diana apropiada en una enfermedad mediada por anticuerpos. Existen varios abordajes sobre las células B:

- Anticuerpos dirigidos a receptores específicos de células B. Disponemos de Ac contra dos receptores CD20 (rituximab, ofatumumab) y CD22 (epratuzumab).
- Limitar la activación BAFF/APRIL. Bien mediante anticuerpos contra BAFF (belimumab) o mediante el receptor (atacicept).

Rituximab

El receptor CD20 no se internaliza ni se desprende de la superficie celular y está presente casi exclusivamente en las células B salvo las subpoblaciones más inmaduras y células plasmáticas maduras. Rituximab actúa sobre el receptor CD20 e induce una depleción por apoptosis mediada por complemento¹¹. Entre los mecanismos de acción no solo debemos considerar la disminución de formación de anticuerpos, ya que las células plasmáticas maduras de vida larga, no poseen CD20 ni son sensibles a los inmunosupresores. Rituximab induce depleción B, aumento de la actividad T reguladora y disminuye la activación de células T.

El grado y duración de la depleción es variable, no solo en función de la dosis, como se demuestra en el estudio de escalada de dosis¹², en el que se produce depleción en la dosis menor (100 mg). Los autores encuentran relación de la no depleción con el fenotipo del receptor FcγIIIa¹³ del que depende la capacidad de apoptosis mediada por complemento. No obstante, la depleción también está mediada por citotoxicidad dependiente de anticuerpos y por apoptosis directamente inducida por la unión de rituximab al CD20.

La experiencia con rituximab en lupus ha sido dominada por estudios abiertos y series de casos prospectivos que reflejan en gran medida la práctica clínica actual, la cual se circunscribe actualmente al tratamiento de pacientes con enfermedad refractaria. Hasta ahora se han publicado más de 700 pacientes con este tratamiento con una tasa de remisiones que varía entre el 50 y el 100% de los casos (tabla 1). Existe una gran variación entre las dosis utilizadas en los diferentes estudios; la pauta utilizada en linfoma, 4 dosis semanales de 375 mg/m², ha sido algo más común que la dosis autorizada para AR, dos dosis de 1g separadas 15 días, pero no hay elementos que permitan diferenciar cuál es la más útil (tabla 1).

La vida media de rituximab es de 21 días y aunque se produce una rápida depleción de linfocitos circulantes, la depleción máxima puede ocurrir a los 3 meses. Las subpoblaciones B en pacientes con lupus muestran un reparto diferente a la población normal. En general la repoblación ocurre a partir de los 6 meses, con grandes diferencias entre pacientes. También existen diferencias en la reconstitución inmune. En aquellos que presentan un predominio de células B naïve y un retraso en la recuperación células de memoria (CD27+) se observan remisiones clínicas prolongadas¹⁴.

La reducción en la formación de anticuerpos es variable, los anti-DNA no se modificaron en el estudio de Looney, en tanto que otros autores reflejan una disminución. No obstante, también se observa disminución de anti-DNA tras el tratamiento con glucocorticoides en brotes.

En una reciente revisión sistemática de la bibliografía¹⁵, los autores seleccionan 27 estudios no controlados, con un total de 456 pacientes. Encuentran eficacia en la reducción de contajes SLEDAI y BILAG. El SLEDAI medio inicial de 8,8 se redujo un 58% y

Tabla 1
Tabla de evidencia sobre el uso de rituximab en el lupus eritematoso sistémico

Autor	Estudio	Pts	Protocolo	IS concomitante	Desenlace eficacia	Respuesta clínica (%)
Leandro 2002 ²⁷	EC abierto	6	0,5 g*2	Cyc iv	BILAG	83
Looney 2004 ^{1,2}	EC abierto	17	100 mg/m ² (N=6)	Varios	SLAM	65
			375 mg/m ² (N=7)		SLEDAI	
			375 mg/m ² *4 (N=4)			
Leandro 2005 ²⁸	SCP	24	1 g*2 en 18 de 24	Cyc iv	BILAG	96
Gottenberg 2005 ²⁹	SCR	13	375 mg/m ² *4	AZA (2), HCQ (1), Cyc (1), MMF (1)	SLEDAI	70
Sfikakis 2005 ³⁰	EC abierto	10	375 mg/m ² *4	Prednisolona	Clínica	80
Marks 2005 ³¹	SCP	7	750 mg/m ² *2	Cyc iv	BILAG	100
Tokunaga 2005 ³²	SCP	5	375 mg/m ² *2	–	SLEDAI clínica	100
Vigna-Pérez 2006 ³³		22	0,5–1 g*2	IS basal	MEX-SLEDAI	90
Smith 2006 ³⁴		11	375 mg/m ² *4	Cyc iv	BILAG	100
Cambridge 2006 ³⁵	SCP	16	0,5*2 (n=4)	Cyc iv (n=14)	BILAG	100
			1 g*2 (n=12)			
García-Hernández 2006 ³⁶	SCR	13	375 mg/m ² *4	Cyc iv	Clínica	70
Ng 2006 ^{37a}	SCP	7	1 g*2	Cyc	BILAG	50
Ng 2007 ³⁸	SCP	32	0,5 g*2 (n=6)	Cyc iv (n=24), varios	BILAG	38
			1 g*2 (n=26)			
Tokunaga 2007 ³⁹	SCP	10 ^b	375 mg/m ² (n=1)	Corticoides (n=10), AZA (n=1)	SLEDAI, clínica	100
			375 mg/m ² *2 (n=6)			
			0,5 g*4 (n=2)			
			1 g*4 (n=1)			
Tanaka 2007 ⁴⁰	EC I/II	15	375 mg/m ² *4 (N=4)	–	BILAG	64
			1 g*2 (n=10)			
Gunnarson 2007 ⁴¹	SCP	7 ^c	375 mg/m ² *4	Cyc iv	SLEDAI	100
Jonsdottir 2008 ⁴²	SCP	16	375 mg/m ² *4	Cyc iv+esteroides	SLEDAI, BILAG	81 (SLEDAI) 94 (BILAG)
Tamimoto 2008 ⁴³	SCP	9	100–250–375 mg/m ²	Corticoides (n=9), Cyc iv (n=1), CSA (n=3)	SLEDAI	89
Cambridge 2008 ⁴⁴	SCP	25	1 g*2 (n=21)	Cyc iv (n=23)	BILAG	¿?
			0,5 g*2 (n=4)			
Albert 2008 ⁴⁵	EC I/II	24	375 mg/m ² *4	6-MP	SLEDAI	70
Sutter 2008 ⁴⁶	SCP	12	375 mg/m ² *4	6-MP	SLEDAI	67
Lu 2009 ⁴⁷	SCR	50	1 g*2	Cyc	BILAG	89
Reynolds 2009 ⁴⁸	SCR	11	0,75–1 g*2	Cyc vi MMF	BILAG	100
			375 mg/m ² *4			
			0,5 g*2			
Lateef 2009 ⁴⁹	SCR	10	375 mg/m ² *2	Cyc iv	BILAG	↓ Mediana 13,5
García-Carrasco 2009 ⁵⁰	SCP ^c	52	1 g*2	6-MP	Mex-SLEDAI	50
Merrill 2010 ¹⁶	EC II/III	257	1 g*2 vs PLB (2:1)	IS basal (AZA, MMF, MTX)	BILAG	RTX=PLB
Catapano 2010 ⁵¹	SCP	31	375 mg/m ² *4 (n=16)	Cyc iv	BILAG	87
			1 g*2 (n=15)			

AZA: azatioprina; Cyc iv: ciclofosfámido intravenoso; EC: ensayo clínico; IS: inmunosupresión; MMF: micofenolato; 6-MP: 6 metil-prednisolona; MTX: metotrexato; Pts: pacientes; RTX: rituximab; SCP: serie de casos prospectiva; SCR: serie de casos retrospectiva.

^a Ciclos repetidos

^b Solo pacientes con neurolupus

^c Sólo pacientes con nefritis lúpica

el BILAG inicial 14,7 se redujo un 61%, con niveles de significación $p < 0,001$ en ambos. En general los estudios prospectivos en condiciones de práctica clínica con rituximab demuestran que en los pacientes con lupus que consiguen una buena depleción de células B alcanzan reducciones de la actividad en torno al 80% con respuestas favorables también en pacientes graves y refractarios a tratamiento estándar¹¹.

Solo hay dos ensayos controlados, EXPLORER¹⁶ con 257 pacientes de lupus excluidos los que tenían nefritis y LUNAR¹⁷ en nefritis con 144; en total 401 pacientes. Los resultados del EXPLORER no muestran mayor eficacia con el comparador en el objetivo BILAG. El LUNAR comparó la respuesta en pacientes de nefritis lúpica tratados con glucocorticoides y micofenolato aleatorizados a placebo o rituximab y no demostró una mayor repuesta completa, pero sí mejor respuesta parcial, considerada como 1) normalización de Cr sérica o aumento inferior al 15%; 2) sedimento urinario inactivo, y 3) cociente en orina de proteína/creatinina $< 0,5$.

En ambos estudios se comparó rituximab o placebo en pacientes en tratamiento con inmunosupresores y corticoides, que podrían minimizar las diferencias. En la experiencia del Hospital de Valme (Sevilla) se trató solo los pacientes no

respondedores a los inmunosupresores habituales, lo que obviaría este inconveniente. Esta experiencia consistió en 17 pacientes de lupus resistente azatioprina, ciclofosfámido o micofenolato. Los primeros pacientes fueron tratados en 2004, disponiéndose por tanto de un seguimiento de hasta 5 años en algunos pacientes, con varios ciclos de tratamiento. La nefritis refractaria fue la causa de tratamiento en 7 pacientes, con un seguimiento medio de 12 meses, que recibieron una media de 2,4 ciclos de tratamiento. Se objetivó una reducción del SLEDAI previo $22,7 \pm 3,1$ y posterior $1,3 \pm 2,2$. La proteinuria media al inicio 3,26 g/d se redujo a 0,7 g/d. Se observó remisión completa en 5 pacientes (71%) y parcial en 2 casos (29%). La tolerancia fue excelente. En la actualidad utilizamos rituximab de forma habitual en los pacientes con LES refractarios a los tratamientos inmunosupresores habituales.

Basándonos en esta experiencia y en los casos publicados en la literatura propusimos, coincidiendo con la creación del grupo de trabajo de enfermedades autoinmunes de la Sociedad Española de Reumatología (EASSER), aunar la experiencia de otros centros españoles en una base de datos se denominó LESIMAB. Esto además permitiría al nuevo grupo obtener una mayor visibilidad en poco tiempo.

La base de datos LESIMAB

El objetivo general del proyecto LESIMAB fue conocer la efectividad, la seguridad y los factores involucrados en la respuesta a rituximab de los pacientes con LES en condiciones de práctica clínica.

Se partió lógicamente desde la hipótesis de que rituximab sería efectivo para tratar la actividad de la enfermedad cuando otros fármacos inmunomoduladores hubieran fracasado. Esta hipótesis no solo se basó en nuestra propia experiencia sino también en los resultados publicados en otras series de casos (tabla 1).

Se incluyeron retrospectivamente solo pacientes clasificados como LES según los criterios de la ACR 1997¹⁸ que hubieran recibido por lo menos una infusión de rituximab, lo que nos permitiría conocer la experiencia completa de todos los centros participantes con este biológico a la vez que hacer un análisis por intención de tratar. Gracias a esta colaboración, se adhirieron al proyecto 19 centros con un total de 131 pacientes. Teniendo en cuenta el total de pacientes que estos centros tienen en seguimiento, la tasa media de uso de rituximab fue del 0,8%. Esta baja cifra de uso de rituximab podría sugerir que el porcentaje de pacientes con lupus que tiene esta complejidad es afortunadamente mínimo pero también que este fármaco reserva actualmente a situaciones extremas.

Dado que uno de los motivos de que los ensayos clínicos no hayan encontrado diferencias entre rituximab y placebo ha sido la elección de los desenlaces de eficacia y el diseño de los estudios. Esto se debe a que los desenlaces actuales están basados en estudios observacionales más que experimentales, a la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas de lupus y su curso evolutivo cambiante; los fármacos inmunomoduladores utilizados son diversos y que a diferencia de lo que sucede con la artritis reumatoide, la definición de la respuesta en el lupus no está estandarizada.

Según el American College of Rheumatology (ACR), the Food and Drug Administration (FDA), the Outcome Measures in Rheumatology Clinical Trials (OMERACT), the European League Against Rheumatism (EULAR), deben incluirse una evaluación de daño acumulado y un índice de actividad de la enfermedad^{19,20}. Los índices de actividad más empleados en los ensayos clínicos son SELENA-SLEDAI y BILAG, los cuales son instrumentos de medida de la actividad que se correlacionan fuertemente^{21,22} y que han demostrado ser efectivos y fiables en estudios observacionales pero no en ensayos clínicos, aunque sus valores basales no siempre predicen el desarrollo de daño y otros desenlaces importantes de la enfermedad. Uno de los problemas que tienen ambos índices de actividad del lupus es que no se ha establecido cuál es el umbral de cambio con significado clínico, mientras que en el caso de SLEDAI no se captan muchas de las manifestaciones clínicas usuales en los pacientes con manifestaciones graves de la enfermedad. Cuando elegimos los desenlaces de LESIMAB pensamos en un índice que se hiciera corrientemente en la práctica clínica por su sencillez y que tuviera alguna fiabilidad en caso de que hubiera que realizarse retrospectivamente en algún caso^{23,24}, lo cual eliminaba del panorama a BILAG, pero apuntaba a SLEDAI como el más oportuno. Parte de la falta de sensibilidad al cambio de SLEDAI ha sido corregida en la versión desarrollada por Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus: National Assessment trial (SELENA-SLEDAI)²⁵, eficaz para la definición de brote pero no así para la de respuesta, que sigue dependiendo de los cambios de puntuación observados en la versión clásica. Por este motivo, decidimos hacer una definición clínica adicional de mejoría para aquellas manifestaciones que no eran captadas por la versión clásica de SLEDAI, con lo cual quedó del siguiente modo:

- Respuesta completa: obtención de un SLEDAI=0 tras el inicio del tratamiento. Si el paciente tenía alguna manifestación

clínica no captada, además debía obtenerse: 1) mejoría $\geq 80\%$ en LES neurológico; 2) $\geq 80\%$ en neutropenia autoinmune (cifras de neutrófilos mayores de 1.500); 3) normalización de las cifras de hemoglobina sin necesidad de transfusiones ni signos clínico-analíticos de hemólisis (si tenía otras causas de anemia ajenas al LES, no se exigió la normalización completa de la hemoglobina); 4) desaparición de los síntomas respiratorios de LES pulmonar junto con la mejoría de las pruebas de imagen, de alguna de las pruebas de función respiratoria [incremento de TLC $\geq 25\%$ o de la FVC $\geq 25\%$ o DLCO/VA (KCO) $\geq 40\%$] y la normalización de la saturación de oxígeno en el test de la marcha, y 5) mejoría del 50% en la proteinuria basal (con una reducción absoluta $> 0,5$ g/d) sin empeoramiento de la función renal (dentro del 10%).

- Respuesta parcial: reducción de SLEDAI > 3 sin empeoramiento ni nueva aparición en ninguno de sus ítems²⁶. Si el paciente tenía alguna manifestación clínica no captada, además debía obtenerse: 1) mejoría $\geq 20\%$ en LES neurológico; 2) $\geq 20\%$ en neutropenia/trombopenia autoinmune; 3) incremento de las cifras de hemoglobina ≥ 2 g/dl sin necesidad de transfusiones o escasa necesidad de transfusiones y mejoría de los signos clínico-analíticos de hemólisis; 4) mejoría de los síntomas respiratorios de LES pulmonar junto con la mejoría de las pruebas de imagen, de alguna de las pruebas de función respiratoria [incremento de TLC $\geq 15\%$ o de la FVC $\geq 15\%$ o DLCO/VA (KCO) $\geq 30\%$] y la normalización de la saturación de oxígeno en el test de la marcha, y 5) mejoría del 50% en la proteinuria basal (con una reducción absoluta $> 0,5$ g/d) sin empeoramiento de la función renal (dentro del 10%).

Las variaciones en el SLEDAI de 1–3 se consideraron fallos de tratamiento pero no nuevo brote. Sin embargo, si un paciente no alcanzó la remisión parcial de la actividad de la enfermedad después del inicio de rituximab debido a que los ítems renales de SLEDAI (sedimento, piuria, proteinuria) no fueron alcanzados, todavía pudo ser considerado en remisión parcial si obtuvo una mejoría del 50% en la proteinuria que tenía antes del tratamiento, pero sin que empeoren (dentro del 10%) las medidas que al principio eran normales. Si la indicación del tratamiento fue trombopenia y la mejoría de SLEDAI se mantuvo entre 1 y 3, todavía pudo ser considerado como una respuesta parcial si hubo una mejoría de las plaquetas y superó las 100.000 plaquetas/mm³.

En cuanto a la definición de brote leve o moderado se siguió exactamente las definiciones de SELENA-SLEDAI. Para evaluar el nivel de daño se usó el SLICC/ACR DI.

En cuanto a las variables de desenlace, se eligieron dos basadas en análisis de supervivencia: 1) tiempo hasta la mejoría completa o parcial, y 2) tiempo hasta el brote leve/moderado o grave tras una mejoría inicial. Elegimos estos desenlaces porque nos permitirían analizar el conjunto de los casos como una cohorte dinámica y conocer cuánto tiempo se mantiene la mejoría clínica asociada con rituximab. Como también estuvo entre nuestros planes un análisis de la efectividad del primer ciclo, se eligieron otras medidas de desenlace secundarias evaluadas a las semanas 12.^a y 16.^a, como la proporción de respuestas completas o parciales y brotes.

El análisis de seguridad se hizo mediante la recogida de acontecimientos adversos relevantes según terminología Med-DRA. Se calcularon las tasas de los mismos, se graduaron por gravedad, su relación causal con rituximab y su desenlace final. Asimismo, se recogió la tasa mortalidad y sus causas en todo el conjunto de casos.

La base de datos se estructuró en 5 bloques en los cuales se recogieron variables clínicas, analíticas y epidemiológicas basales

del lupus y su evolución tras el primero y los sucesivos ciclos de rituximab.

En los próximos meses, LESIMAB espera continuar su difusión científica mejorando la visibilidad de EASSER y contribuyendo a mostrar el interés presente en la Sociedad Española de Reumatología por las enfermedades autoinmunes sistémicas.

Conflicto de intereses

Los autores han participado como ponentes en conferencias para Roche, Abbott, Schering-Plough (actualmente MSD), Wyeth (actualmente Pfizer) y Bristol-Myers Squibb. Ambos también han participado eventualmente como asesores científicos en estas mismas compañías.

Agradecimientos

Debemos agradecer la participación de los centros que han enviado los casos a LESIMAB y al grupo de trabajo de la Sociedad Española de Reumatología EASSER. Los coinvestigadores participantes en LESIMAB por orden alfabético son:

José Luis Andreu, Hospital Puerta de Hierro, Madrid
Jaime Calvo Alén, Hospital Sierrallana (Torrelavega), Santander
Patricia Carreira, Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid

Luis Carreño, Hospital Gregorio Marañón, Madrid
Mónica Fernández Castro, Hospital Puerta de Hierro, Madrid
María Galindo, Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid
Antonio Fernández-Nebro, HRU Carlos Haya, Málaga
Mercedes Freire González, Complejo Hospitalario Juan Canalejo, A Coruña

Txaro García de Vicuña, Hospital de la Princesa, Madrid
Blanca E. Hernández, Hospital CU Virgen Macarena, Sevilla
María López Lasanta, HRU Carlos Haya, Málaga
Francisco Javier López Longo, Hospital Gregorio Marañón, Madrid

José Luis Marenco de la Fuente, Hospital de Valme, Sevilla
Víctor Martínez Taboada, Hospital Marqués de Valdecilla, Santander

Javier Narváez, Hospital de Bellvitge, Barcelona
Alejandro Olivé Marqués, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona (Barcelona)

José María Pego Reigosa, Hospital do Meixoeiro (CHU de Vigo)
José J Pérez Venegas, Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz
Enrique Raya Álvarez, Hospital CU San Cecilio, Granada
Iñigo J Rúa-Figueroa, Hospital Dr. Negrín, Las Palmas de Gran Canaria

Ana I Sánchez Atrio, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares

Eva Tomero, Hospital de la Princesa, Madrid
Eduardo Úcar Angulo, Hospital de Basurto, Bilbao
Paloma Vela Casasempere, Hospital General de Alicante, Alicante
Antonio Zea, Hospital Ramón y Cajal, Madrid

Bibliografía

- Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period – A comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine*. 2003;82:299–308.
- Camona L, Ballina J, Gabriel R, Laffon A. The burden of musculoskeletal diseases in the general population of Spain: results from a national survey. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:1040–5.
- Fessler BJ, Alarcón GS, McGwin Jr G, Roseman J, Bastian HM, Friedman AW, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: XVI. Association

of hydroxychloroquine use with reduced risk of damage accrual. *Arthritis Rheum*. 2005;52:1473–80.

- Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Ramón Garrido E, Danieli MG, et al. The 10-year follow-up data of the Euro-Lupus Nephritis Trial comparing low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Ann Rheum Dis*. 2009.
- Contreras G, Tozman E, Nahar N, Metz D. Maintenance therapies for proliferative lupus nephritis: mycophenolate mofetil, azathioprine and intravenous cyclophosphamide. *Lupus*. 2005;14(Suppl 1):s33–8.
- Zhu B, Chen N, Lin Y, Ren H, Zhang W, Wang W, et al. Mycophenolate mofetil in induction and maintenance therapy of severe lupus nephritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22:1933–42.
- Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C, Kim MY, Buyon J, Merrill JT, et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med*. 2005;353:2219–28.
- Matsumura R, Umemiya K, Sugiyama T, Sueishi M, Umibe T, Ichikawa K, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy in patients with difficult-to-treat lupus nephritis: a prospective series of nine patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27:416–21.
- Ronnlund L, Elkon KB. Cytokines as therapeutic targets in SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2010.
- Bruce IN. Re-evaluation of biologic therapies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22:273–7.
- Sabahi R, Anolik JH. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. *Drugs*. 2006;66:1933–48.
- Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Arend LJ, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2580–9.
- Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Sanz J, Rosenblatt J, et al. The relationship of FcγRIIIa genotype to degree of B cell depletion by rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2003;48:455–9.
- Anolik JH, Barnard J, Cappione A, Pugh-Bernard AE, Felgar RE, Looney RJ, et al. rituximab improves peripheral B cell abnormalities in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004;50:3580–90.
- Murray E, Perry M. Off-label use of rituximab in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Clin Rheumatol*. 2010.
- Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum*. 2010;62:222–33.
- Furie R, Rovin BH, Kamen DL, Latinis KM. Trial design and baseline characteristics of patients in the randomised double-blind, placebo controlled phase III lupus nephritis assessment with rituximab study (LUNAR). *Ann Rheum Dis*. 2009;68(Suppl3):253.
- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725.
- Strand V. Lessons learned from clinical trials in SLE. *Autoimmun Rev*. 2007;6:209–14.
- Bertsias G, Gordon C, Boumpas DT. Clinical trials in systemic lupus erythematosus (SLE): lessons from the past as we proceed to the future—the EULAR recommendations for the management of SLE and the use of endpoints in clinical trials. *Lupus*. 2008;17:437–42.
- Gladman DD, Goldsmith CH, Urowitz MB, Bacon P, Bombardier C, Isenberg D, et al. Crosscultural validation and reliability of 3 disease activity indices in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 1992;19:608–11.
- Ward MM, Marx AS, Barry NN. Comparison of the validity and sensitivity to change of 5 activity indices in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2000;27:664–70.
- FitzGerald JD, Grossman JM. Validity and reliability of retrospective assessment of disease activity and flare in observational cohorts of lupus patients. *Lupus*. 1999;8:638–44.
- Bernatsky S, Clarke A, Abrahamowicz M, Neville C, Karp I, Pineau CA. A comparison of prospective and retrospective evaluations of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Disease Index for systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2005;32:820–3.
- Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, Sammaritano LR, et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2005;353:2550–8.
- Furie RA, Petri MA, Wallace DJ, Ginzler EM, Merrill JT, Stohl W, et al. Novel evidence-based systemic lupus erythematosus responder index. *Arthritis Rheum*. 2009;61:1143–51.
- Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, Ehrenstein MR, Isenberg DA. An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2002;46:2673–7.
- Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44:1542–5.
- Gottenberg JE, Guillemin L, Lambotte O, Combe B, Allanore Y, Cantagrel A, et al. Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:913–20.
- Sfikakis PP, Boletis JN, Lionaki S, Vigiakis V, Fragiadaki KG, Niotaki A, et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52:501–13.

31. Marks SD, Patey S, Brogan PA, Hasson N, Pilkington C, Woo P, et al. B lymphocyte depletion therapy in children with refractory systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;52:3168–74.
32. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, et al. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44:176–82.
33. Vigna-Pérez M, Hernández-Castro B, Paredes-Saharopolos O, Portales-Pérez D, Baranda L, Abud-Mendoza C, et al. Clinical and immunological effects of rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R83.
34. Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR. Long-term comparison of rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: Remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2970–82.
35. Cambridge G, Leandro MJ, Teodorescu M, Manson J, Rahman A, Isenberg DA, et al. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: effect on autoantibody and antimicrobial antibody profiles. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3612–22.
36. García-Hernández F, Díaz-Cobos C, Callejas-Rubio J, Ocaña-Medina C, Ortego-Centeno N, Sánchez-Román J, et al. Experiencia con rituximab en el tratamiento de pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Reumatol Clin.* 2006;23–30.
37. Ng KP, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Cambridge G, Isenberg DA. Repeated B cell depletion in treatment of refractory systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:942–5.
38. Ng KP, Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein M, Isenberg DA. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: long-term follow-up and predictors of response. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1259–62.
39. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nakayamada S, et al. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:470–5.
40. Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Nishimoto N, Miyasaka N, Sumida T, et al. A multicenter phase I/II trial of rituximab for refractory systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol.* 2007;17:191–7.
41. Gunnarsson I, Sundelin B, Jonsdottir T, Jacobson SH, Henriksson EW, van Vollenhoven RF. Histopathologic and clinical outcome of rituximab treatment in patients with cyclophosphamide-resistant proliferative lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1263–72.
42. Jonsdottir T, Gunnarsson I, Risselada A, Henriksson EW, Klareskog L, van Vollenhoven RF. Treatment of refractory SLE with rituximab plus cyclophosphamide: clinical effects, serological changes, and predictors of response. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:330–4.
43. Tamimoto Y, Horiuchi T, Tsukamoto H, Otsuka J, Mitoma H, Kimoto Y, et al. A dose-escalation study of rituximab for treatment of systemic lupus erythematosus and Evans' syndrome: immunological analysis of B cells, T cells and cytokines. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47:821–7.
44. Cambridge G, Isenberg DA, Edwards JC, Leandro MJ, Migone TS, Teodorescu M, et al. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: relationships among serum B lymphocyte stimulator levels, autoantibody profile and clinical response. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:1011–6.
45. Albert D, Dunham J, Khan S, Stansberry J, Kolasinski S, Tsai D, et al. Variability in the biological response to anti-CD20 B cell depletion in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:1724–31.
46. Sutter JA, Kwan-Morley J, Dunham J, Du YZ, Kamoun M, Albert D, et al. A longitudinal analysis of SLE patients treated with rituximab (anti-CD20): factors associated with B lymphocyte recovery. *Clin Immunol.* 2008;126:282–90.
47. Lu TY, Ng KP, Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein M, et al. A retrospective seven-year analysis of the use of B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus at University College London Hospital: the first fifty patients. *Arthritis Rheum.* 2009;61:482–7.
48. Reynolds JA, Toescu V, Yee CS, Prabu A, Situnayake D, Gordon C. Effects of rituximab on resistant SLE disease including lung involvement. *Lupus.* 2009;18:67–73.
49. Lateef A, Lahiri M, Teng GG, Vasoo S. Use of rituximab in the treatment of refractory systemic lupus erythematosus: Singapore experience. *Lupus.* 2010.
50. García-Carrasco M, Mendoza-Pinto C, Sandoval-Cruz M, Soto-Vega E, Beltrán-Castillo A, Jiménez-Hernández M, et al. Anti-CD20 therapy in patients with refractory systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 52 Hispanic patients. *Lupus.* 2010;19:213–9.
51. Catapano F, Chaudhry AN, Jones RB, Smith KG, Jayne DW. Long-term efficacy and safety of rituximab in refractory and relapsing systemic lupus erythematosus. *Nephrol Dial Transplant.* 2010.

PAPER

Multicenter longitudinal study of B-lymphocyte depletion in refractory systemic lupus erythematosus: the LESIMAB study

A Fernández-Nebro¹, JL Marengo de la Fuente², L Carreño³, M Galindo Izquierdo⁴, E Tomero⁵, I Rúa-Figueroa⁶, BE Hernández-Cruz⁷, J Narváez⁸, E Úcar⁹, A Olivé¹⁰, A Zea¹¹, M Fernández-Castro¹², E Raya-Álvarez¹³, JM Pego-Reigosa¹⁴, M Freire¹⁵, VM Martínez-Taboada¹⁶, J Pérez-Venegas¹⁷, AI Sánchez-Atrio¹⁸, I Villa-Blanco¹⁹, S Manrique-Arija¹, FJ López-Longo³, PE Carreira⁴, R Martínez-Pérez² and R García-Vicuña⁵

¹Rheumatology Service, Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Spain; ²Rheumatology Section, Hospital Universitario Virgen de Valme, Spain; ³Rheumatology Service, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Spain; ⁴Rheumatology Service, Hospital Universitario Doce de Octubre, Spain; ⁵Rheumatology Service, Hospital Universitario de la Princesa, Spain; ⁶Rheumatology Service, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Spain; ⁷Rheumatology Service, Hospital Clínico Universitario Virgen Macarena, Spain; ⁸Rheumatology Service, Hospital Universitario de Bellvitge, Spain; ⁹Rheumatology Service, Hospital Universitario de Basurto, Spain; ¹⁰Rheumatology Service, Hospital Germans Trias i Pujol, Spain; ¹¹Rheumatology Service, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Spain; ¹²Rheumatology Service, Hospital Puerta de Hierro, Spain; ¹³Rheumatology Service, Hospital Clínico Universitario San Cecilio, Spain; ¹⁴Rheumatology Service, Hospital do Meixoeiro, Spain; ¹⁵Rheumatology Service, Hospital Juan Canalejo, Spain; ¹⁶Rheumatology Service, Hospital Marqués de Valdecilla, Spain; ¹⁷Rheumatology Section, Hospital de Jerez de la Frontera, Spain; ¹⁸Rheumatology Service, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Spain; and ¹⁹Rheumatology Section, Hospital de Sierrallana, Spain

Objective: This study aimed to investigate the effectiveness and safety of single and repeated courses of rituximab in patients with refractory lupus. **Methods:** LESIMAB is a multicenter, retrospective, longitudinal study of lupus patients who have not responded to standard therapy and have been treated with rituximab. Response rates at six months and at follow-up were defined as efficacy outcomes. Complete response was defined as a SELENA-SLEDAI score \leq two and a SELENA-SLEDAI Flare Index of zero. Partial response was defined as a reduction in the SELENA-SLEDAI score of \geq four points with no new or worsening of symptoms. Adverse events were collected. **Results:** Seventy-three (62.9%) of 116 patients achieved a response at six months (complete in 22 and partial in 51). Ninety-seven (77.6%) of 128 patients achieved a response after a mean follow-up of 20.0 ± 15.2 months (complete in 50 and partial in 47). High baseline SLEDAI score, previous treatment with ≥ 100 mg/day prednisone, and no history of severe hematologic flare were associated with response after the first treatment course. The median time to response was 6.5 months (95% CI, 5.0–8.0). Thirty-seven patients (38.1%) relapsed after the first infusion. The flare was severe in seven cases and mild to moderate in 29 cases. Serious infection rate was 12.6/100 patient-years. A schedule of four weekly doses was associated with more serious infections. Six patients died: two of infection and four of lupus complications. **Conclusion:** Rituximab can be an effective treatment option for patients who have refractory lupus with severe or life-threatening disease with an acceptable tolerance profile. *Lupus* (2012) 21, 1063–1076.

Key words: Systemic lupus erythematosus; rituximab; effectiveness treatment; safety; biological therapy; infection

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, multisystem inflammatory disease with a wide range of clinical manifestations and characterized by the presence of auto-antibodies directed against a number of self-antigens.

In recent years, the 10-year survival rate for SLE patients has significantly improved,¹ but the

Correspondence to: Antonio Fernández-Nebro, Servicio de Reumatología, Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Pabellón C: "Hospital Civil", Plaza del Hospital Civil s/n, 29009 – Málaga, Spain

Email: afnebro@gmail.com

Received 14 November 2011; accepted 4 April 2012

© The Author(s), 2012. Reprints and permissions: <http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav>

10.1177/0961203312446627

long-term prognosis remains poor in patients with severe SLE because they tend to suffer more complications and are exposed to more intensive immunosuppression.² Corticosteroids and immunosuppressant drugs have traditionally been used to treat moderate to severe cases of SLE, but a substantial subset of patients either fail to achieve optimal disease control or develop severe toxicity.

Rationale for T and B cells as therapeutic targets in SLE is supported by a well-documented pathogenic role of autoreactive T cells and polyclonally activated B cells in lupus manifestations.³ Rituximab is a chimeric monoclonal antibody that selectively binds the CD20 receptor and induces B-cell depletion.⁴ Only two controlled randomized trials of rituximab in SLE have been published.⁵⁻⁷ These studies detected positive signals for this treatment, but failed to detect significant differences in the primary outcomes between the active and control arms as groups. Since these results were published, many questions have been raised about the methods employed in these studies, especially regarding the bias of exclusion of severe organ manifestations. Although previous observational studies have investigated the effects of rituximab on SLE, the analysis of sizable cohorts of patients treated for clinical need is still important to improving our understanding of the potential benefit of rituximab in SLE as used in clinical practice. The aim of this study was to investigate the effectiveness and safety of single and repeated courses of rituximab in patients with severe refractory SLE in the clinical setting.

Patients and methods

Study design

LESIMAB is a multicenter, retrospective, longitudinal, observational study of SLE patients who have failed to respond to conventional therapy and have been treated with rituximab. This study was designed by the Systemic Autoimmune Diseases Working Group of the Spanish Society of Rheumatology (SADWG-SSR). Nineteen rheumatology units at Spanish university centers with substantial experience in the management of SLE agreed to participate in this study.

Patients

Patients who were diagnosed with SLE according to the revised American College of Rheumatology (ACR) criteria,⁸ who had active disease despite ongoing corticosteroid and/or immunosuppressive

treatment and who completed at least two evaluations related to anti-CD20 infusions were eligible for the study. The Ethics and Clinical Research Committee of the Carlos Haya University Hospital approved the study as a central approval requirement, and all participants provided local committee agreement and written informed consent from recruited patients.

Variables and effectiveness criteria

The primary outcome for effectiveness was the rate of either complete or partial response at six \pm three months after the first course of rituximab. A course was defined as a complete set of infusions (two doses of 1000 mg rituximab given 14 days apart or four weekly doses of 375 mg/m² rituximab) administered in each cycle of treatment.

The secondary outcomes included the response rate at the end of follow-up (one or repeated courses), rate of flare (mild to moderate and severe flare) at the end of follow-up, time to achieve the best response (complete or partial) at the end of follow-up, time to relapse after remission, and change from baseline of clinical and laboratory variables associated with lupus activity.

Complete response was defined as a Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SELENA-SLEDAI) score of two points or less and a modified SELENA-SLEDAI Flare Index (SFI) score of zero. Partial response was defined by a reduction of at least four points in the SELENA-SLEDAI score with no new or worsening symptoms as measured by the SELENA-SLEDAI-SFI.

Protocol and clinical assessment

Rituximab (Mabthera®, Roche, Spain) was added to the patients' standard treatment, including premedication, according to local protocols (113 received intravenous (IV) 6-methyl-prednisolone plus histamine-H1-antagonists or acetaminophen, and the rest received only H1-antagonists with or without acetaminophen). A follow-up of at least 10 weeks after the first course was mandatory to be included for the effectiveness analysis after the first rituximab course, but those patients who died during this period were included too. However, all patients who received at least one infusion of rituximab were considered in both effectiveness and safety intention-to-treat analysis at follow-up, even if they had a follow-up of less than 10 weeks. The last-observation-carried-forward approach was used for missing data.

Baseline data were collected on lupus manifestations, previous treatment and other associated medical problems, including the Charlson-age comorbidity index.⁹ A successful B-cell depletion (BCD) was defined as a fall in the absolute CD19 count to $<0.005 \times 10^9/l$. Disease activity and relapses were scored using the SELENA-SLEDAI and modified SFI.^{10,11} A revised SELENA flare tool that excluded the physician's global assessment component was used to define flare. The Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC)/ACR Damage Index (SDI) was used to quantify the degree of accrued irreversible organ damage.¹² Physical function was measured using the Spanish version of the Health Assessment Questionnaire (HAQ).¹³ Antiphospholipid syndrome was classified according to the Sydney revision of the Sapporo criteria.¹⁴ Lupus severity was classified using previously described criteria.¹⁵ Kidney biopsies were classified according to the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society 2003 classification.¹⁶

To minimize possible errors in data collection, a standard protocol was used, and all participating rheumatologists carefully discussed the protocol variables. Data collection was recorded only by the rheumatologists involved. All the investigators were familiar with the use of disease activity indexes as most of them had been involved in clinical trials and/or trained in specific programs for the use of the SELENA-SLEDAI, SFI and SDI provided by the SADWG-SSR. Data collection was transferred to a computerized database and an online monitoring process was employed to analyze consistency of recorded data.

Safety assessment

Adverse events (AEs) were classified using the Medical Dictionary for Regulatory Activities Terminology.¹⁷ The type and severity of resulting AEs and their association with rituximab were evaluated. Serious AEs, infusion-related AEs and infection-related AEs were summarized independently. An infection was considered serious if it resulted in death, was life-threatening, required inpatient or prolonged existing hospitalization, caused persistent or significant disability/incapacity, induced a congenital anomaly/birth defect, or required IV antibiotic treatment.

Statistical analysis

Endpoint analyses were performed per protocol on the eligible sample ($n=128$), and on the intention-to-treat sample, defined as all patients ever treated

($n=131$). Normal distribution of variables was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. Paired two-sample *t*-test or Wilcoxon's signed-rank test was used to analyze the effect of rituximab after both the first treatment course and follow-up assessments. The McNemar test was used for the comparison of correlated proportions. Comparisons between groups were performed with the χ^2 test, Student's *t*-test, or Mann-Whitney test, as appropriate.

Kaplan-Meier curves were used to estimate the time to best response and time to flare. The data used to calculate these metrics were those for the lowest and highest SELENA-SLEDAI scores, respectively. Univariate and bivariate logistic regression analyses were used to identify baseline factors related to response rates, severe AEs, severe infections and mortality. Statistical analyses were performed using Stata 10.0 software (Stata Corp., USA).

Results

Baseline patient characteristics

One hundred and thirty-one patients with refractory lupus were treated with at least one infusion of rituximab from 18 November 2003 to 5 February 2009. This sample accounts for 7.9% (range 1.5 to 9.4) of 1659 patients followed from 19 hospitals. Three patients were excluded for lack of a follow-up visit at the time the study was closed. Table 1 shows the baseline characteristics of the 128 selected SLE patients. Most of them were white Caucasians (92.2%), while 5.5% were Hispanics and 2.3% indicated another ethnicity. They displayed disproportionate age-related comorbidity burden and showed a Charlson-age comorbidity index of 2.2 ± 1.4 (mean \pm SD), and previous serious infections were seen in 12 patients (9.4%), including *Nocardia pneumonia*, miliary tuberculosis, staphylococcal osteomyelitis, staphylococcal arthritis, or sepsis. All patients had a serious disease according to the number of ACR criteria fulfilled, the number of severely involved organs, an unusually high frequency of antiphospholipid syndrome and the number of lupus-related drugs previously taken. Kidney biopsies, according to the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society 2003 classification, were available for 55 of 63 patients, which included class II ($n=4$), class III ($n=12$), class IV ($n=32$), class V ($n=6$), and classes IV + V ($n=1$). All patients were undergoing steroid treatment and displayed

Multicenter longitudinal study of B-lymphocyte depletion in refractory SLE: the LESIMAB study
A. Fernández-Nebro *et al.*

1066

Table 1 Baseline characteristics of 128 refractory SLE patients treated with at least one course of rituximab

Variable	Patients
Age, mean yr \pm SD	38.2 \pm 12.1
Female, <i>n</i> (%)	115 (89.8)
Disease duration from SLE diagnosis, mean yr \pm SD	7.3 \pm 6.5
Cumulated ACR criteria, mean \pm SD	6.5 \pm 1.6
Antiphospholipid syndrome, <i>n</i> (%) ^a	30 (23.4)
Background serious involved organ/system, mean \pm SD ^b	2.0 \pm 1.3
Musculoskeletal, <i>n</i> (%)	42 (32.8)
Cutaneous-mucosal, <i>n</i> (%)	25 (19.5)
Kidney, <i>n</i> (%)	63 (49.2)
Hematological, <i>n</i> (%)	48 (37.5)
Nervous system, <i>n</i> (%)	27 (21.0)
Heart, <i>n</i> (%)	18 (13.7)
Pulmonary, <i>n</i> (%)	22 (17.1)
Other, <i>n</i> (%) ^c	18 (14.1)
Previous treatments, mean \pm SD	5.3 \pm 1.7
Chloroquine/hydroxychloroquine, <i>n</i> (%)	113 (88.3)
Corticosteroids, <i>n</i> (%)	128 (100)
High-dose intravenous methylprednisolone, <i>n</i> (%)	75 (55.7)
Azathioprine, <i>n</i> (%)	88 (68.7)
Cyclophosphamide (bolus), <i>n</i> (%)	66 (51.5)
Mycophenolate mofetil, <i>n</i> (%)	54 (42.2)
Methotrexate, <i>n</i> (%)	48 (37.5)
Anticoagulants, <i>n</i> (%)	35 (27.3)
Intravenous immunoglobulin, <i>n</i> (%)	30 (23.4)
Anti-TNF drugs, <i>n</i> (%)	12 (9.4)
Cyclosporine A, <i>n</i> (%)	10 (7.8)
Lefflumide, <i>n</i> (%)	9 (7.0)
Splenectomy, <i>n</i> (%)	6 (4.7)
Tacrolimus, <i>n</i> (%)	4 (3.1)
Danazol, <i>n</i> (%)	4 (3.1)
Epratuzumab, <i>n</i> (%)	2 (1.6)
Mercaptopurine, <i>n</i> (%)	1 (0.8)

SLE: systemic lupus erythematosus; ACR: American College of Rheumatology; ^aSydney revision of Sapporo criteria; ^bThe severity of lupus was classified using the following criteria:¹⁷ slight, when either in the past or in the present, no important organs, such as the kidneys, central nervous system, heart, or lungs, had been affected; moderate, when only one of these organs had been or was currently affected; and severe, when two or more of these organs had been affected or aggressive therapy had been required for complications, such as more than 50 mg of prednisone daily, or pulse therapy with steroids or cyclophosphamide boluses; ^cconstitutional, liver, vascular, or ophthalmic; SD: standard deviation.

clinically significant disease activity despite the use of at least two immunosuppressive drugs.

Drug regimens

Most of the patients were treated with two doses of 1000 mg rituximab given 14 days apart or four weekly doses of 375 mg/m² rituximab (Table 2). Sixty-nine patients received repeated courses of rituximab: 30 patients (22.9%), two cycles; 22 patients (16.8%), three cycles; 11 patients (8.4%),

Table 2 Rituximab and concomitant treatment regimens in 128 refractory SLE patients

Rituximab, <i>n</i> (%)	
1 g \times two	83 (64.8)
0.375 g/m ² \times four	38 (29.7)
Others	7 (5.5)
Concomitant treatment, <i>n</i> (%)	
Prednisone	126 (98.4)
Cyclophosphamide IV	32 (24.0)
Coupled to rituximab infusions	27 (21.1)
Monthly	5 (3.9)
Prednisolone (bolus)	23 (17.0)
Prednisolone (bolus) plus cyclophosphamide (bolus)	10 (7.8)
Azathioprine, mg/day	25 (19.5)
Methotrexate, mg/week	18 (14.1)
Mycophenolate mophetile	15 (11.7)
Other immunosuppressant agent	9 (7.0)
Hydroxychloroquine, mg/day	58 (45.3)

SLE: systemic lupus erythematosus; IV: intravenously.

four cycles; four patients (3.1%), five cycles; one patient (0.8%), seven cycles; and one patient (0.8%), nine cycles. Thirty-one patients received a new cycle for clinical need, while the rest were treated on an every-six month scheduled program.

All but two patients received rituximab in combination with moderate to high doses of glucocorticoids (mean dose \pm SD, 0.5 \pm 0.8 mg/kg/day). In 32 patients (24.4%), rituximab was given in monotherapy (*n* = 16) or in combination with hydroxychloroquine (*n* = 16) without any other immunosuppressant. In 99 (75.5%), rituximab was concomitantly used with intravenous cyclophosphamide boluses (*n* = 32, 0.750 mg/m²), azathioprine (*n* = 25; mean dose \pm SD, 108.0 \pm 31.2 mg/day), methotrexate (*n* = 18; mean dose, 16.7 \pm 9.4 mg/week), mycophenolate mophetile (*n* = 15), and other (*n* = 9).

Indications of rituximab

As shown in Table 3, most SLE patients had active disease at baseline despite treatment with moderate to high doses of corticosteroids; 75 patients (58.6%) had high or very high SLEDAI scores. Although most patients had multi-organ lupus flares, characterized by a wide range of combinations of arthritis, nephritis and cutaneous rashes, the primary indications for rituximab were: nephritis (*n* = 42), arthritis (*n* = 27), thrombocytopenia (*n* = 17), neurologic manifestations (*n* = 11), serious general involvement (*n* = 10), cutaneous lupus (*n* = 8), serious pulmonary complications (*n* = 5), hemolytic anemia (*n* = 3) and others (*n* = 5).

Lupus

Table 3 Effectiveness at six \pm three months after the first course ($n = 116^a$)

	Baseline	First course	p value
HAQ (0–3), mean \pm SD	1.253 \pm 0.689	0.674 \pm 0.556	$p < 0.001$
SDI (0–49), mean \pm SD	1.7 \pm 2.1	1.8 \pm 2.2	$p = 0.007$
SELENA-SLEDAI (0–105), mean \pm SD	14.6 \pm 10.0	4.8 \pm 4.5	$p < 0.001$
SFI signs and criteria			
No. of mild/moderate SFI criteria, mean \pm SD	1.3 \pm 0.9	0.78 \pm 0.06	$p < 0.001$
No. of severe SFI criteria, mean \pm SD	2.1 \pm 1.3	0.37 \pm 0.76	$p < 0.001$
Prednisolone (mg/day), mean \pm SD ^b	32.4 \pm 57.3	11.7 \pm 11.9	$p < 0.001$
Rash, n (%) ^c	31 (24.2)	8 (7.0)	$p = 0.001$
Nasopharyngeal ulcers, n (%)	10 (7.8)	3 (2.6)	$p = 0.109$
Pleuritis, n (%)	8 (6.3)	1 (1.0)	$p = 0.031$
Pericarditis, n (%)	7 (5.5)	2 (1.7)	$p = 0.031$
Arthritis, n (%)	54 (42.2)	4 (3.5)	$p < 0.001$
Fever (lupus), n (%)	17 (13.3)	3 (2.6)	$p = 0.001$
Neuropsychiatric (lupus), n (%)	7 (5.5)	1 (0.9)	$p = 0.031$
Systemic vasculitis, n (%)	6 (4.7)	2 (1.7)	$p = 0.063$
Nephropathy, n (%)	44 (34.4)	9.0 (7.9)	$p < 0.001$
Platelets < 60 ($10^9/L$), n (%)	21 (16.4)	3 (2.6)	$p < 0.001$
Hemolytic anemia, n (%)	6 (4.7)	1 (1.0)	$p = 0.125$
New NSAID or HCQ for SLE, n (%)	21 (16.4)	11 (9.6)	$p = 0.049$
New immunosuppressant for SLE, n (%)	40 (31.3)	22 (19.3)	$p = 0.026$
Hospitalization for SLE, n (%)	62 (48.4)	17 (14.9)	$p < 0.001$

SLE: systemic lupus erythematosus; HAQ: Health Assessment Questionnaire; SDI: Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index; SELENA-SLEDAI: Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-SLE disease activity index; NSAID: non-steroidal anti-inflammatory drugs; HCQ: hydroxychloroquine; SFI: SELENA-SLEDAI Flare Index; ^aPatients who completed at least 10 weeks of follow-up and patients who died before completing the minimum 10-week follow-up; ^bprednisone equivalent; ^cincluding cutaneous vasculitis.

Clinical response after the first course of rituximab

One hundred and twelve patients completed a median follow-up time of 26.7 weeks (range, 11.1–42.1) after the first course of rituximab. Four patients who died before completing the minimum 10-week follow-up were also included in the analysis ($n = 116$).

A total of 73 SLE patients (62.9%; 95% confidence interval (CI), 49.3–79.1) achieved a response after the first course of rituximab; 22 patients (19.6%; 95% CI, 12.3–29.7) showed a complete response and 51 patients (45.5%; 95% CI, 36.1–55.2), a partial response. The best clinical responses were observed in patients with arthritis (81.5%), cutaneous involvement (87.5%), nephritis (65.8%), neuropsychiatric lupus (73%), thrombocytopenia (65%), or severe generalized flare (40%).

After the first course of rituximab, 21/31 (68%) patients achieved a successful B-cell depletion (CD19 count to $< 0.005 \times 10^9/L$).

Furthermore, all of the clinical and laboratory baseline variables improved with rituximab treatment (Tables 3 and 4). Reductions in proteinuria and recovery in both C3 and C4 complement fraction levels were also observed. Anti-double-stranded

DNA (anti-dsDNA) antibody tests became negative in 49 out of 66 patients tested. Noticeably, a moderate but significant reduction in antiphospholipid antibodies was observed. Moreover, improvements were reported in physical function, SELENA-SLEDAI score and all SFI signs and criteria. Steroid dosage requirement decreased to a mean final dose of one third compared to baseline requirements.

Effectiveness of rituximab during follow-up

Endpoint analyses were performed per protocol on the eligible sample ($n = 128$). Nonetheless, analyses based on the intention-to-treat sample, defined as all patients ever treated ($n = 131$), were also performed and showed similar results (data not shown). Then, 128 patients had at least one post-baseline measurement of effectiveness after a mean follow-up of 20.0 ± 15.2 months (range, 0.46–69.9) and a total follow-up of 213.46 patient-years. The clinical and biological benefits from rituximab therapy were prolonged until the end of follow-up after a mean time period of 2.0 ± 1.3 rituximab cycles. As measured at the last visit, the mean dose of steroids was noticeably lower than baseline and dropped

Table 4 Laboratory parameters at six \pm three months after the first course ($n=116^a$)

	Baseline	First course	p value
Leukocytes ($10^9/L$), mean \pm SD	6.1 \pm 3.2	6.4 \pm 3.6	$p=0.396$
Neutrophils ($10^9/L$), mean \pm SD	4.1 \pm 2.6	4.1 \pm 3.1	$p=0.776$
Lymphocytes ($10^9/L$), mean \pm SD	1.3 \pm 0.8	1.5 \pm 0.8	$p=0.010$
Hemoglobin (g/dl), mean \pm SD	11.5 \pm 2.1	12.5 \pm 1.7	$p<0.001$
Platelets ($10^9/L$), mean \pm SD	217.9 \pm 119.5	238.7 \pm 93.4	$p=0.024$
ESR (mm), mean \pm SD	34.5 \pm 24.7	20.2 \pm 16.0	$p<0.001$
CRP (mg/l), mean \pm SD	12.7 \pm 3	5.9 \pm 10.1	$p<0.001$
Serum albumin (g/dl), mean \pm SD	4.4 \pm 5.4	4.1 \pm 0.5	$p<0.001$
Serum creatinine (mg/dl), mean \pm SD	1.0 \pm 1.1	0.9 \pm 0.4	$p=0.123$
Proteinuria (g/day), mean \pm SD	1.6 \pm 2.4	0.8 \pm 1.2	$p=0.005$
C3 (mg/dl), mean \pm SD	74.3 \pm 30.8	92.6 \pm 30.6	$p<0.001$
C4 (mg/dl), mean \pm SD	11.6 \pm 7.1	16.6 \pm 8.8	$p<0.001$
Anti-dsDNA+, n (%)	66 (65.3)	41 (52.6)	$p=0.019$
aCL IgG, mean \pm SD	34.0 \pm 59.0	22.6 \pm 48.4	$p=0.025$
aCL IgM, mean \pm SD	14.2 \pm 21.4	13.2 \pm 24.8	$p=0.218$
Anti- β 2-GPI IgG, mean \pm SD	25.2 \pm 62.9	12.4 \pm 20.8	$p=0.867$
Anti- β 2-GPI IgM, mean \pm SD	9.1 \pm 15.4	9.6 \pm 14.3	$p=0.601$
Lupus anticoagulant, n (%)	27 (31.4)	13 (21.3)	$p=0.008$

SD: standard deviation; ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; C3: C3 fraction of complement; C4: C4 fraction of complement; anti-dsDNA: anti-double-stranded DNA antibodies; aCL: anti-cardiolipin antibodies; anti- β 2-GPI: anti- β 2-glycoprotein I antibodies; ^aPatients who completed at least 10 weeks of follow-up plus the patients who died before completing the minimum 10-week follow-up.

significantly more in responders than in non-responders (8.5 ± 8.4 vs. 16.5 ± 17.4 mg/day; $p=0.007$). In addition, tests for anti-dsDNA antibodies turned to were negative in 49 of the 66 patients.

One hundred and twenty-five (95.4%) patients had sufficient data to evaluate the response rate at the end of follow-up, and the record from just three patients did not provide enough data to calculate a SELENA-SLEDAI score at the last visit. Ninety-seven patients (77.6%; 95% CI, 62.9–94.7) showed a response, with 50 patients (40.1%; 95% CI, 32.2–50.2) showing a complete response and 47 patients (38.5%; 95% CI, 29.8–47.8) showing a partial response. The median time to achieve the best response was 6.5 months (95% CI, 5.0–8.0) (Figure 1A). Thirty-seven patients (38.1%; 95% CI, 26.8–52.6) relapsed after a median of 10.8 months (95% CI, 2.8–18.7) following administration of the first course of rituximab (Figure 1B). Seven patients (7.2%; 95% CI, 2.9–15.5) had severe flares, whereas 29 patients (29.9%; 95% CI, 20.0–42.9) had mild or moderate flares, as measured by the SFI.

The best clinical responses at the end of follow-up were observed in patients with arthritis (93%), cutaneous (87.5%), nephritis (82.5%), neuropsychiatric lupus (73%), thrombocytopenia (65%), or severe generalized flare (62.5%).

Factors associated with effectiveness

As shown in Table 5, patients who were treated concomitantly with cyclophosphamide were younger, had shorter disease duration and received lower daily doses of steroids compared with the other patients. Noticeably, they had more severe disease status at baseline when cumulative ACR criteria and SELENA-SLEDAI were considered. However, this schedule did not improve the clinical response or minimize relapses and was associated with more AEs.

Compared with two doses of 1000 mg rituximab given 14 days apart, four weekly doses of 375 mg/m² rituximab was most frequently used in patients with fever (7.1% vs. 23.7%; $p=0.015$), thrombocytopenia (11.8% vs. 26.3%; $p=0.043$) and lupus nephritis (29.4% vs. 44.7%; $p=0.098$). However, this schedule did not yield better clinical responses or fewer relapses but it was associated with more AEs (see below).

On the other hand, patients who were concomitantly treated with hydroxychloroquine exhibited less cumulative ACR criteria (1.8 ± 1.2 vs. 2.2 ± 1.4 ; $p=0.046$) and lower SDI scores (1.3 ± 1.8 vs. 2.0 ± 2.1 ; $p=0.046$). They had higher baseline SELENA-SLEDAI scores (16.7 ± 10.5 vs. 12.3 ± 8.4 ; $p=0.008$), especially cutaneous lupus activity (33.9% vs. 16.7%; $p=0.002$) and higher baseline numbers of mild to

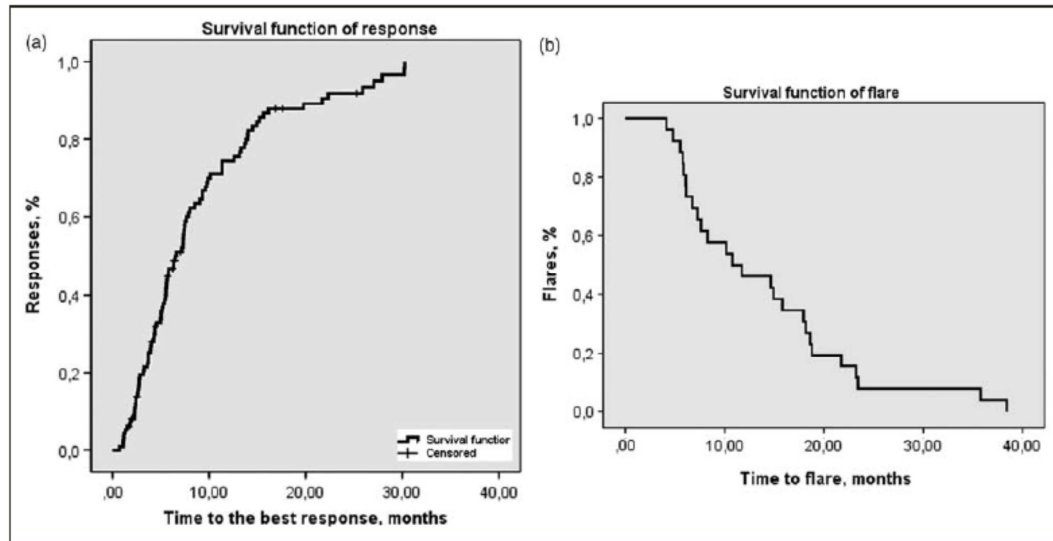


Figure 1 (a) Time to achieve the best response administration of the first course of rituximab. (b) Relapsed after administration of the first course of rituximab.

Table 5 Differences in baseline profile between lupus patients treated with and without concomitant cyclophosphamide

	With cyclophosphamide	Without cyclophosphamide	p value
Age-incidence (yrs), mean \pm SD	33.1 \pm 9.8	40.3 \pm 129.4	0.001
Disease duration (yrs), mean \pm SD	5.2 \pm 4.3	8.1 \pm 6.9	0.049 ^a
No. of ACR criteria, mean \pm SD	7.2 \pm 1.5	6.3 \pm 1.6	0.003 ^a
Previous highest dose of corticosteroids (mg/day) ^b , mean \pm SD	74.0 \pm 44.6	115.9 \pm 180.8	0.036 ^a
Pleuritis, n (%)	5 (15.2)	4 (4.1)	0.044 ^c
Pericarditis, n (%)	5 (15.2)	2 (2.0)	0.011 ^c
Nephritis, n (%)	16 (48.5)	29 (29.6)	0.048
SELENA-SLEDAI (0–105), mean \pm SD	17.7 \pm 9.7	13.2 \pm 9.4	0.012 ^a
Disease flares			
SFI, mild/moderate, n (%)	0	12 (12.2)	0.037 ^c
SFI, severe, n (%)	33 (100)	84 (85.7)	0.021 ^c
No. of severe SFI criteria, mean \pm SD	2.7 \pm 1.1	1.9 \pm 1.3	0.001 ^a

Cyclophosphamide was given intravenously (0.750 g/m²); SELENA-SLEDAI: Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-SLE disease activity index; SFI: SELENA-SLEDAI Flare Index; ^aMann-Whitney U test; ^brefers to the highest dose ever used from the lupus diagnostic; ^cFisher exact test.

moderate SFI criteria (1.5 ± 0.9 vs. 1.2 ± 0.9 ; $p = 0.030$).

A number of baseline variables were associated with clinical response after the first course of rituximab, as shown by the covariates presented in Table 6. For instance, each one-point increase in the SELENA-SLEDAI score was associated with a 10% increase in the probability of response. Higher response rates were observed among patients who had at some time taken steroid

doses higher than 100 mg/day, whereas patients with a previous serious hematologic disorder were 83% less likely to achieve a response.

In the multivariate logistic regression analysis at the end of follow-up, previous treatment with immunoglobulin (hazard ratio (HR) = 0.3 (95% CI, 0.1–0.9); $p = 0.003$), higher SLEDAI scores (HR = 1.1 (95% CI, 1.0–1.2); $p = 0.012$), concomitant treatment with prednisolone plus cyclophosphamide bolus (HR = 0.1 (95% CI, 0.0–0.6);

Table 6 Uni- and multivariate logistic regression analysis of 116 lupus patients, treated with at least one course of rituximab, after the first course of treatment (six \pm three months). Dependent variable: complete or partial remission

	Univariate		Multivariate ^a	
	p value	OR (95% CI)	p value	OR (95% CI)
Previous treatment with immunoglobulins	0.007	0.3 (0.1–0.7)	0.135	—
Previous treatment with prednisolone \geq 100 mg/day ^b	0.032	0.3 (1.1–15.0)	0.010	7.3 (1.6–32.9)
Previous discoid rash	0.025	4.4 (1.2–15.8)	0.082	—
Previous severe hematologic disorder	0.003	0.3 (0.1–0.7)	<0.001	0.17 (0.06–0.46)
Baseline SLEDAI (0–105)	0.001	1.1 (1.03–1.2)	0.001	1.1 (1.04–1.16)

OR: odds ratio; CI: confidence interval; ^aforward stepwise (LR); Nagelkerke's $R^2=0.318$; ^bhistory of treatment with daily doses above 100mg/day to control of the lupus activity. Refers to the highest dose ever used from the lupus diagnostic.

$p=0.010$) and concomitant treatment with immunosuppressive agents other than cyclophosphamide (HR 3.5 (95% CI, 1.2–10.0); $p=0.022$) were entered into the model.

Safety of rituximab

Fifty-one patients (38.9%) treated with at least one infusion of rituximab had a total of 90 AEs, and almost half of these AEs were serious (Table 7). The most common AEs were infections (22.0/100 patient-years) and infusion-associated reactions (9.3/100 patient-years). Most of the infections were serious, whereas most of the infusion-associated reactions were mild to moderate. Regarding the other AEs, a great majority could not be directly related to treatment. Seventy-two AEs (84.7%) required treatment, and 38 AEs (44.7%) caused hospitalization, 13 of which (15.2%) needed treatment in intensive care units.

Severe infections presented early in the study (before the 40th week), although an increase in frequency could also be observed later (after the 80th week) (Figure 2). Airways were the most frequent site of infection (3.7/100 patient-years), including pneumonia (2.8/100 patient-years), followed by herpes zoster infections (3.2/100 patient-years) and urinary tract infections (2.3/100 patient-years), including pyelonephritis (1.4/100 patient-years). Twenty-seven of 47 infectious events required IV antibiotics, and microorganisms were identified in 26 cases. Gram-negative bacteria were isolated in nine cases (*E. coli*, seven cases; *P. aeruginosa*, one case; *K. pneumoniae*, one case), Gram-positive bacteria in five (*Staphylococcus*, three cases; *L. monocytogenes*, one case; *Streptococcus*, one case), virus in 10 (six cases of herpes zoster virus, two cases of HHV-1 and two cases of

HPV) and fungi in two cases (*Candida* sp. and *Aspergillus*).

Six patients died: two fatalities were due to infection (i.e. macrophage-activated syndrome in the context of invasive aspergillosis and gangrene) and four complications were related to SLE (i.e. multi-organ lupus activity, acute alveolar hemorrhage, pulmonary hypertension and acute respiratory distress syndrome).

Factors associated with severe AEs

The patients who used four weekly doses of 375 mg/m² rituximab had a high instance of AEs compared with two doses of 1 g (Figure 3): total AEs 64.9/100 person-years (incidence rate ratio (IRR) 1.8; 95% CI 1.3 to 3.0; $p=0.002$), total infections 42.3/100 person-years (IRR 3.1; 95% CI 1.7 to 5.9; $p<0.001$), serious infections 25.7/100 person-years (IRR 3.6; 95% CI 1.5 to 8.7; $p=0.001$), sepsis 15.1/100 person-years; 95% CI 1.5 to 23.0; $p=0.003$) and infections that required intensive care 7.5/100 person-years (IRR 5.3; 95% CI 1.2 to 498.4; $p=0.016$).

The baseline risk factors for severe AEs, severe infections and mortality are shown in Table 8. As determined by the multivariate analyses, the age-adjusted Charlson comorbidity index and previous treatment with a prednisolone bolus were independent risk factors for any severe AEs. Interestingly, the number of severely affected organ systems, high baseline leukocyte count and four doses of rituximab were identified as risk factors for severe infection. Mortality was associated with the SDI, the number of severe SFI criteria that were met and co-treatment with prednisolone plus cyclophosphamide bolus.

Table 7 Adverse events in SLE patients under rituximab treatment

Adverse event type	No. of patients N = 131 (213,46 patient-yrs)	No. of events	Incidence/100 patient-yrs (all events/patients)
Total adverse events	51 (38.9)	90	42.2
Mild/moderate	25 (19.1)	47	22.0
Serious ^a	26 (19.8)	43	20.1
Fatal	6 (4.5)	6	2.8
Type of adverse event			
Infections	27	47	22.0
Mild/Moderate	10	20	9.4
Serious ^a	17	27 ^b	12.6
Fatal	2	2 ^c	0.9
Infusion-associated reaction	15	20	9.3
Mild/moderate	10	14	6.5
Serious	5	6 ^d	2.8
Cervical dysplasia	1	1	0.5
Hemorrhagic cystitis	1	1	0.5
Worsening of disease	1	1	0.5
Arthralgia	1	1	0.5
Pregnancy	1	1	0.5
Thrombocytopenia	1	1	0.5
Diarrhea	1	1	0.5
Seizures	1	1	0.5
Pyrexia	1	1	0.5
Vomiting	1	1	0.5
Breast cancer	1	1	0.5
Pulmonary hemorrhage	1	1	0.5
Pulmonary hypertension	1	1	0.5
Edema	1	1	0.5
Multiple mononeuritis	1	1	0.5
Cutaneous lupus erythematosus	1	1	0.5
Adult respiratory distress syndrome	1	1	0.5
Retches	1	1	0.5
Anxiety	1	1	0.5
Demyelination	1	1	0.5
Headache	1	1	0.5
Peripheral ischemia	1	1	0.5
Heart failure	1	1	0.5

SLE: systemic lupus erythematosus; ^afatal events included; ^b14 sepsis; ^cone sepsis; ^done anaphylactic reaction.

Discussion

Rituximab has been widely used in patients with severe SLE to avoid potentially serious toxicities or because of the unsatisfactory response of refractory disease to immunosuppressive agents.^{7,18-30} Rituximab is frequently utilized although it does not have official approval; furthermore, two clinical trials have found insufficient efficacy for its treatment of lupus.^{5-7,18} For clinical needs, the present study provides new data that rituximab can result in a high response rate in patients with refractory SLE after 10 weeks, as assessed with SELENA-SLEDAI.

The cohort analyzed here is quite sizable and could be informative enough given the severity of

disease that has been treated in our sample. This great burden in our patients explains the high proportion of previous serious infections, antiphospholipid syndrome, failed drugs, resistant nephritis, etc. In fact, these patients account for less than 10% of SLE patients treated in 19 hospitals.

We attempted to limit the bias inherent in observational studies by using a consensus protocol, monitoring data consistency and ensuring that participant rheumatologists with a great experience in SLE have had training in specific data collection.

Rituximab was indicated when antimalarials, corticosteroids and immunosuppressant drugs failed to control disease in patients with lupus flare. The severity profile of the patients in this

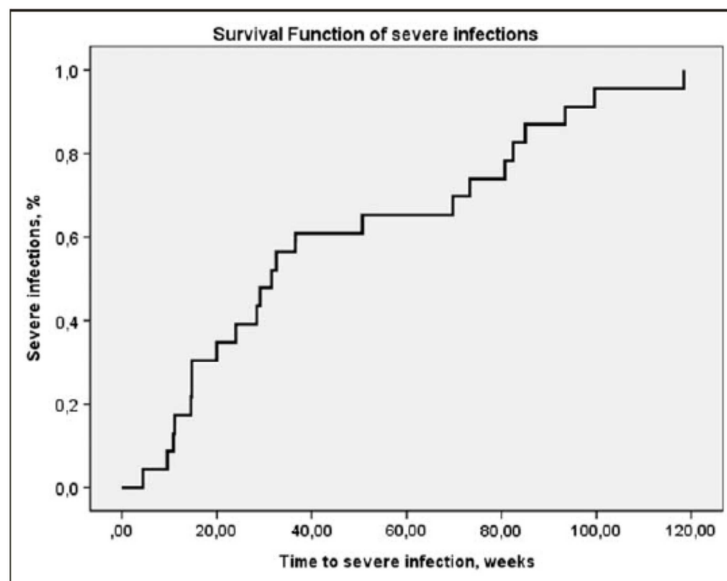


Figure 2 Time to severe infections were presented.

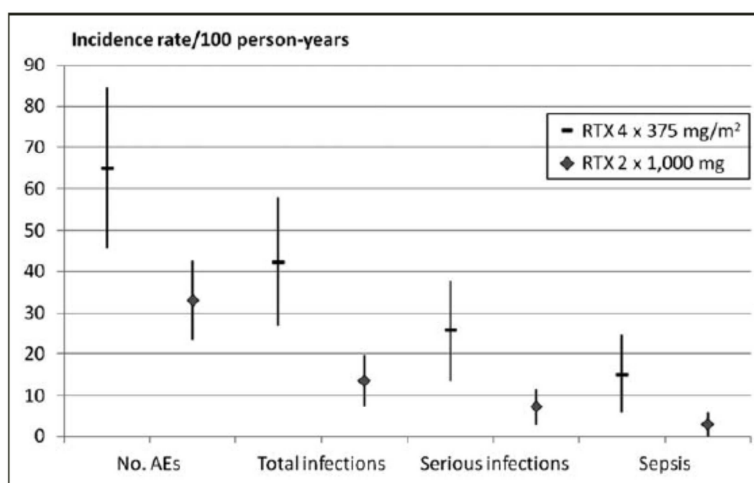


Figure 3 Incidence of total adverse events (AEs), total infections, serious infections, and sepsis by rituximab (RTX) schedule. Point estimated incidence rate/100 person-years of 2 doses of 1,000 mg rituximab given 14 days apart (vs. 4 weekly doses of 375 mg/m² rituximab (95% confidence interval).

study is quite similar to previous case series, but their disease status is more severe than those in the Exploratory Phase II/III SLE Evaluation of Rituximab EXPLORER^{5,6,18} and Lupus Nephritis

Assessment with Rituximab (LUNAR)⁷ clinical trials. Unlike the patients in the aforementioned trials, our patients achieved a first response rate of 63%, which increased to 78% by the end of

Table 8 Uni- and multivariate logistic regression analysis of SLE patients under treatment with rituximab ($n = 125^a$)

	Univariate		Multivariate	
	p value	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)
Severe adverse events ^b				
Age-adjusted Charlson comorbidity index	0.030	1.6 (1.1–2.4)	0.049	1.6 (1.0–2.6)
Previous treatment with steroid bolus	0.001	5.4 (2.0–14.8)	0.002	5.9 (1.9–18.4)
Baseline mild or moderate flare	0.047	0.3 (0.1–0.9)	0.356	—
Serum albumin, g/dL	0.047	0.4 (0.2–0.9)	0.159	—
Severe infection ^c				
Age-adjusted Charlson comorbidity index	0.002	1.7 (1.2–2.4)	0.772	—
No. of severely involved organ systems	<0.001	2.0 (1.4–2.9)	0.001	2.0 (1.3–2.9)
Baseline leukocyte count, $\times 10^9/L$	0.045	1.2 (1.0–1.3)	0.046	1.2 (1.0–1.4)
Baseline serum albumin, g/dL	0.005	0.3 (0.2–0.7)	0.509	—
Baseline serum C4 level, mg/dL	0.034	0.8 (0.8–0.9)	0.102	—
SDI (0–49)	0.017	1.3 (1.1–1.6)	0.937	—
No. of severe SFI criteria	0.019	1.6 (1.1–2.4)	0.856	—
Rituximab schedule				
Two doses of 1 g		Reference		
Four doses of 375 mg/m ²	0.008	3.9 (1.4–10.7)	0.014	5.0 (1.4–18.3)
Other dose	0.999	—	0.999	—
Mortality ^d				
No. of severely involved systems	0.002	2.1 (1.3–3.4)	0.519	—
Previous treatment with immunoglobulins	0.021	7.9 (1.4–45.7)	0.088	—
Baseline serum albumin, g/dL	0.033	0.3 (0.1–0.9)	0.618	—
SDI (0–49)	0.001	1.6 (1.2–2.2)	0.026	2.4 (1.1–5.2)
No. of severe SFI criteria	0.002	3.7 (1.6–8.6)	0.054	5.4 (0.9–30.6)
Baseline SELENA-SLEDAI	0.043	1.1 (1.0–1.1)	0.345	—
Rituximab schedule				
Two doses of 1 g		Reference		
Four doses of 375 mg/m ²	0.021	7.9 (1.4–45.8)	0.289	—
Other dose	0.999	—	0.889	—
Cyclophosphamide bolus therapy	0.035	6.6 (1.1–37.6)	0.160	—
Prednisolone plus cyclophosphamide bolus	0.002	16.7 (2.8–98.4)	0.042	22.3 (1.1–447.7)

SLE: systemic lupus erythematosus; HR: hazard ratio; SDI: systemic lupus international collaborating clinics American College of Rheumatology damage index; SFI: SELENA-SLEDAI Flare Index; SELENA-SLEDAI: Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-SLE disease activity index; ^apatients treated with at least one infusion of rituximab with a follow-up > 10 weeks; ^bforward stepwise (LR); Nagelkerke's R^2 0.188; ^cforward stepwise (LR); Nagelkerke's R^2 0.401; ^dforward stepwise (LR); Nagelkerke's R^2 0.678.

the study and was accompanied by a notable decrease in steroid requirements. Overall, previous studies found that rituximab resulted in reductions in SLEDAI scores of 38–70%,^{24,26,28,31–34} although more modest responses were observed in studies that treated patients with only mild SLE activity.^{33,34} This observation was previously reported,³⁵ and it is interesting in that it partially explains why poorer responses have been observed in clinical trials. In fact, our study found that the probability of a positive response increased by 10% for each one-point increase in baseline SELENA-SLEDAI score and was seven times higher in patients who had at some time required very high steroid doses. Indeed, it is not surprising that a refractory disease that has failed to respond to multiple therapies may respond poorly to rituximab. In agreement with this observation, 37.5% of patients in the present study who had a history of severe hematologic

complications that had required steroids, danazol, immunoglobulins, or even a splenectomy were 83% less likely to respond to rituximab.

The mean time to achieve a defined response was three to four months, whereas several individual parameters improved more rapidly. In our cohort, the lowest SELENA-SLEDAI scores were achieved at nearly six months, and patients were relapse free for a mean of 10.8 months. These results are consistent with those of other studies.^{19,23,32,36–39} Only 38% of responders experienced a flare (mostly mild) after the final rituximab infusion. Although a few predictors of relapse have been identified by others, including positive anti-ENA antibodies or low C3 levels,²⁹ our study identified none. Due to retrospective collection data, the absence of a central laboratory could lead to a poorer correlation between assays and likely explain why we failed to confirm this.

In terms of efficacy and safety, and derived from its use off-label, no consensus in the dose and administration regimen of rituximab has been established for SLE, and no direct comparison of two IV infusions of rituximab at 1 g versus four infusions of rituximab at 375 mg has been undertaken.³⁵ Different administration schedules could be a limitation of the present study, but the analysis of this variable showed no influence in the response rate. However, regarding safety, the regimen of four doses of rituximab at 375 mg/m² was associated with a five-fold elevated risk of serious infection compared to two doses of 1 g in the multivariate analysis. If confirmed, this important new finding could have a practical impact on the management of these patients.

There are also no rules about monotherapy or combined treatment with rituximab, particularly whether cyclophosphamide or other immunosuppressant agents should be used. One study indicated that adding cyclophosphamide to rituximab does not offer additional benefits in the treatment of lupus nephritis at 48 weeks.²⁴ In our study, cyclophosphamide was added in patients with more severe disease status and higher baseline activity, suggesting that their rheumatologists were confident using this drug for severe lupus. Although this may be a selection bias, cyclophosphamide showed no greater benefit, and data about its combined effects have been contradictory.^{32,34,37,40,41} In fact, we observed that our patients concomitantly treated with other immunosuppressant drugs were 3.5 times more likely to achieve a response by the end of the study. By contrast, the combination of cyclophosphamide plus steroid IV bolus was associated with lower efficacy at the end of the study and higher mortality, but this result may also reflect a selection bias of a more refractory disease.

Concerning re-treatment, the time regimen schedules in previous studies are also flexible but limited information is available.^{21,26,36,38,42,43} In this regard, our results provide relevant information regarding this issue: 53% of patients were re-treated (one patient even received nine repeated courses), but less than one-third of patients received treatment every six months. Unlike in rheumatoid arthritis (RA), the repeated cycle of B-cell depletion in SLE patients every six months would eliminate the transitional and naive B cells that typically emerge after profound depletion in SLE and could delay a late phase of improvement.⁴⁴ This process could be another reason for the failure of previous clinical trials^{5-7,18} and may explain why

the response rate improved over time in our patients.

Current data show a relative safety profile for rituximab in treatment of SLE patients. Our results confirm that infusion-associated AEs are mild and similar to those observed in RA patients. However, severe infections were more frequent than those observed in SLE patients in the AutoImmunity and Rituximab (AIR) registry.²⁶ Although the authors observed a severe infection rate of just 6.6/100 patient-years, similar to that observed for anti-TNF drugs in the treatment of RA,^{45,46} they observed one additional fatal infection and used different criteria for severe infection criteria. In our study, it is unclear whether infections observed can be attributed to rituximab given the study design and the high rate of serious infections in the group prior to rituximab. The inclusion of patients with severe lupus, even those with severely low complement levels or leukopenia and those with a large previous cytotoxic background, may represent additional confounding factors. Another factor that may contribute to this high rate of infections was that having treated the patients with B cell depletion, the concomitant immunosuppressive drugs were continued in 75% of our cases. Furthermore, most risk factors for total AEs, serious infections and mortality were linked to comorbidity and lupus severity. Accordingly, the only risk factors we have identified for serious infections that could be related to rituximab were the four doses of rituximab regimen as treatment with cyclophosphamide plus corticosteroid bolus, which might reflect the high risk conferred by both drugs in severely ill patients. In fact, 10% of our patients had received biologic therapy with either TNF antagonist or epratuzumab after failure of conventional treatment, as some of our centers have reported benefits of this treatment.⁴⁷ In our opinion, all these factors could have contributed to the higher rate of serious infections compared with other studies.

In conclusion, the LESIMAB study has demonstrated that rituximab is an effective choice in selected patients refractory to standard treatment. However, close monitoring for infections is mandatory in patients with multiple organ systems disease activity, high leukocyte counts and a dosing schedule of four doses of 375 mg rituximab.

Acknowledgement

We thank Loreto Carmona for expert assistance.

Funding

This work was partially supported by RETICS Program, RD08/0075 (RIER) from Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), within the VI PN de I+D+I 2008-2011, (FEDER).

Conflict of interest statement

None declared.

References

- 1 Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82: 299-308.
- 2 Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, et al. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 2006; 119: 700-706.
- 3 Bruce IN. Re-evaluation of biologic therapies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 273-277.
- 4 Sabahi R, Anolik JH. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. *Drugs* 2006; 66: 1933-1948.
- 5 Merrill J, Neuwelt C, Wallace D, Shanahan J, Latinis K, Oates J. Design and baseline characteristics of patients in randomized double blind placebo controlled phase I/II study (EXPLORER) to evaluate the efficacy and safety of rituximab in patients with moderate to severely active systemic lupus erythematosus [abstract]. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(Suppl 2): s347.
- 6 Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 222-233.
- 7 Furie R, Looney R, Rovin B, et al. Efficacy and safety of rituximab in subjects with active proliferative lupus nephritis (LN): results from the randomized, double-blind phase III LUNAR study [abstract]. *Arthritis Rheum* 2009; 60(Suppl 10): 1149.
- 8 Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- 9 Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40: 373-383.
- 10 Buyon JP, Petri MA, Kim MY, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2005; 142(Suppl 1): 953-962.
- 11 Petri M, Kim MY, Kalunian KC, et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2005; 353: 2550-2558.
- 12 Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 363-369.
- 13 Esteve-Vives J, Battle-Gualda E, Reig A. Spanish version of the Health Assessment Questionnaire: reliability, validity and transcultural equivalency. Grupo para la Adaptación del HAQ a la Población Española. *J Rheumatol* 1993; 20: 2116-2122.
- 14 Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
- 15 Fernández-Nebro A, Palacios-Muñoz R, Gordillo J, et al. Chronic or recurrent headache in patients with systemic lupus erythematosus: a case control study. *Lupus* 1999; 8: 151-156.
- 16 Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 241-250.
- 17 Brown EG, Wood L, Wood S. The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA). *Drug Saf* 1999; 20: 109-117.
- 18 Merrill J, Neuwelt C, Wallace D, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 222-33.
- 19 Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, Ehrenstein MR, Isenberg DA. An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2673-2677.
- 20 Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G. Clinical outcome in 22 patients with rheumatoid arthritis treated with B lymphocyte depletion. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 883-888.
- 21 Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 1542-1545.
- 22 Lu TY, Ng KP, Cambridge G, et al. A retrospective seven-year analysis of the use of B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus at University College London Hospital: the first fifty patients. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 482-487.
- 23 Ng KP, Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein M, Isenberg DA. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: long-term follow-up and predictors of response. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1259-1262.
- 24 Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2580-2589.
- 25 Gottenberg JE, Guillemin L, Lambotte O, et al. Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 913-920.
- 26 Terrier B, Amoura Z, Ravaut P, et al. Safety and efficacy of rituximab in systemic lupus erythematosus: results from 136 patients from the French AutoImmunity and Rituximab registry. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2458-2466.
- 27 Sfikakis PP, Boletis JN, Tsokos GC. Rituximab anti-B-cell therapy in systemic lupus erythematosus: pointing to the future. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17: 550-557.
- 28 Vigna-Perez M, Hernandez-Castro B, Paredes-Saharopoulos O, et al. Clinical and immunological effects of rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R83.
- 29 Cambridge G, Isenberg DA, Edwards JC, et al. B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: relationships among serum B lymphocyte stimulator levels, autoantibody profile and clinical response. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1011-1016.
- 30 Catapano F, Chaudhry AN, Jones RB, Smith KG, Jayne DW. Long-term efficacy and safety of rituximab in refractory and relapsing systemic lupus erythematosus. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 3586-3592.
- 31 Tokunaga M, Fujii K, Saito K, et al. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 176-182.
- 32 Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, et al. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 470-475.
- 33 Sutter JA, Kwan-Morley J, Dunham J, et al. A longitudinal analysis of SLE patients treated with rituximab (anti-CD20): factors associated with B lymphocyte recovery. *Clin Immunol* 2008; 126: 282-290.
- 34 Albert D, Dunham J, Khan S, et al. Variability in the biological response to anti-CD20 B cell depletion in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1724-1731.

- 35 Favas C, Isenberg DA. B-cell-depletion therapy in SLE—what are the current prospects for its acceptance? *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5: 711–716.
- 36 Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR. Long-term comparison of rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2970–2982.
- 37 Sfikakis PP, Boletis JN, Lionaki S, *et al.* Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 501–513.
- 38 Ng KP, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Cambridge G, Isenberg DA. Repeated B cell depletion in treatment of refractory systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 942–945.
- 39 Jonsdottir T, Gunnarsson I, Risselada A, Henriksson EW, Klareskog L, van, Vollenhoven RF. Treatment of refractory SLE with rituximab plus cyclophosphamide: clinical effects, serological changes, and predictors of response. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 330–334.
- 40 Li EK, Tam L-S, Zhu TY, *et al.* Is combination rituximab with cyclophosphamide better than rituximab alone in the treatment of lupus nephritis? *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 892–898.
- 41 Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Munoz S, Soto MJ. A systematic review of the off-label use of biological therapies in systemic autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore)* 2008; 87: 345–364.
- 42 Lateef A, Lahiri M, Teng GG, Vasoo S. Use of rituximab in the treatment of refractory systemic lupus erythematosus: Singapore experience. *Lupus* 2010; 19: 765–770.
- 43 Turner-Stokes T, Lu TY, Ehrenstein MR, Giles I, Rahman A, Isenberg DA. The efficacy of repeated treatment with B-cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus: an evaluation. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50: 1401–1408.
- 44 Sanz I, Lee FE. B cells as therapeutic targets in SLE. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 326–337.
- 45 Dixon WG, Watson K, Lunt M, Hyrich KL, Silman AJ, Symmons DP. Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2368–2376.
- 46 Listing J, Strangfeld A, Kary S, *et al.* Infections in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic agents. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3403–3412.
- 47 Micheloud D, Nuño L, Rodríguez-Mahou M, *et al.* Efficacy and safety of Etanercept, high-dose intravenous gammaglobulin and plasmapheresis combined therapy for lupus diffuse proliferative nephritis complicating pregnancy. *Lupus* 2006; 15: 881–885.

ANNUAL EUROPEAN CONGRESS OF RHEUMATOLOGY

6-9 JUNE, 2012; BERLIN, GERMANY

2012] [AB0625] EFFECT OF ONE CYCLE OF RITUXIMAB IN THE LIPID PROFILE OF PATIENTS WITH REFRACTORY SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

L. Nieves-Martín¹, J.M. Pego², J.L. Marenco³, L. Carreño⁴, M. Galindo⁵, E. Tomero⁶, I. Rúa-Figueroa⁷, B.E. Hernández⁸, J. Narváez⁹, E. Úcar¹⁰, A. Olivé¹¹, A. Zea¹², M. Fernández-Castro¹³, E. Raya-Alvarez¹⁴, M. Freire¹⁵, V.M. Martínez-Taboada¹⁶, J. Pérez-Venegas¹⁷, A.I. Sánchez-Atrio¹⁸, I. Villa¹⁹, S. Manrique-Arija¹, V. Rodríguez-García¹, C. Romero-Barco¹, F.J. López-Longo⁴, P.E. Carreira⁵, R. Martínez Pérez³, R. García-Vicuña⁶, A. Fernández-Nebro¹

¹Rheumatology service, Hospital Carlos Haya, Malaga; ²Hospital do Meixoeiro, Vigo; ³Hospital Virgen de Valme, Sevilla; ⁴Hospital Gregorio Marañón; ⁵Hospital Doce de Octubre; ⁶Hospital de la Princesa, Madrid; ⁷Hospital Dr. Negrín, Gran Canaria; ⁸Hospital Virgen Macarena, Sevilla; ⁹Hospital de Bellvitge, Barcelona; ¹⁰Hospital de Basurto, Bilbao; ¹¹Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona; ¹²Hospital Ramón y Cajal; ¹³Hospital Puerta de Hierro, Madrid; ¹⁴Hospital San Cecilio, Granada; ¹⁵Hospital Juan Canalejo, A Coruña; ¹⁶Hospital Marqués de Valdecilla, Santander; ¹⁷Hospital de Jerez de la Frontera, Jerez de la Frontera; ¹⁸Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares; ¹⁹Hospital de Sierrallana, Torrelavega, Spain

Objectives: To investigate lipidic changes that occurs with Rituximab(RTX) in refractory SLE-patients.

Methods: Multicenter, retrospective, longitudinal study. All SLE-patients from LESIMAB study with basic lipid data at baseline and 6±3 months after the first cycle of RTX were included. Cardiovascular risk factors (CVRF), comorbidities and treatments were collected, including lipid profile.

Results: 101 patients were included (91% women; age 38.7±12.1yrs). The duration of SLE was 7.1±6.1yrs, median of severe organ-systems affected was 2.0 (range, 0-6), and median of previous drugs against SLE was 5 (range, 2-9). The Charlson-age comorbidity index was of 2.0±1.2 and the number of classic CVRF was 1.1±0.1. The baseline SLEDAI was 14.2±9.6. RTX was administrated with other drugs, including corticosteroids (n=101), hydroxychloroquine (HCQ; n=48), and statins (n=16). As it shows the table, the mean of lipid profile at baseline was good and these values were similar between patients with concomitant HCQ. The patients who were receiving statins had worse baseline lipid profile (CT, p=0.028; LDL, p=0.011; VLDL, p=0.040; TG, p=0.040). After 6±3 months of RTX treatment, the global lipids values didn't change significantly (Table). However, the patients who achieved a good clinical response (partial or complete) in the SLE activity their lipid profile also improved [TC (p=0.004), HDL (p=0.004), VLDL (p=0.041) and TG (p=0.041)] and a correlation between improvement of SLEDAI (delta-SLEDAI at 24w from baseline, 9.8±9.5) and the improvement of the lipid profile after 24w was observed: delta-CT 24w (r=0,349; p<0,001), delta-TG 24w (r=0,366; p<0,001) y delta-VLDL 24w (r=0,366; p<0,001). Although the needs of corticosteroids decreased (delta-prednisone after 24w was 21.0±63.8mg/d), it

didn't influence in the lipid improvement, since there was no correlation between delta-prednisone after 24w and improvement in lipid profile.

	Basal	24 SEM	P-VALOR
CT (mg/dl)	195,0±46,0	197,0±42,2	0,710
HDL (mg/dl)	60,1±23,4	63,1±23,5	0,540
Índice aterogénico	3,6±1,5	3,4±1,4	0,270
C-LDL (mg/dl)	102,2±43,6	99,8±40,1	0,645
C-VLDL (mg/dl)	29,2±12,9	27,9±14,2	0,226
TG (mg/dl)	146,0±64,5	139,4±71,2	0,226

Conclusions: RTX doesn't seem to have an intrinsic effect in the lipid profile from patients with refractory SLE. However, a good control of the disease activity promotes a improvement in lipid profile.

Disclosure of Interest: None Declared

Citation: Ann Rheum Dis 2012;71(Suppl3):674

Lupus

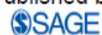
<http://lup.sagepub.com/>

The effects of rituximab on the lipid profile of patients with active systemic lupus erythematosus: results from a nationwide cohort in Spain (LESIMAB)

A Fernández-Nebro, JL Marenco, F López-Longo, M Galindo, BE Hernández-Cruz, J Narváez, Í I Rúa-Figueroa, E Raya-Alvarez, A Zea, M Freire, AI Sánchez-Atrio, R García-Vicuña, JM Pego-Reigosa, S Manrique-Arija, L Nieves-Martin, L Carreño and on behalf of LESIMAB GROUP
Lupus published online 15 May 2014
 DOI: 10.1177/0961203314534909

The online version of this article can be found at:
<http://lup.sagepub.com/content/early/2014/05/15/0961203314534909>

Published by:



<http://www.sagepublications.com>

Additional services and information for *Lupus* can be found at:

Email Alerts: <http://lup.sagepub.com/cgi/alerts>

Subscriptions: <http://lup.sagepub.com/subscriptions>

Reprints: <http://www.sagepub.com/journalsReprints.nav>

Permissions: <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>

>> [OnlineFirst Version of Record](#) - May 15, 2014

[What is This?](#)

PAPER

The effects of rituximab on the lipid profile of patients with active systemic lupus erythematosus: results from a nationwide cohort in Spain (LESIMAB)

A Fernández-Nebro¹, JL Marenco², F López-Longo³, M Galindo⁴, BE Hernández-Cruz⁵, J Narváez⁶, I Rúa-Figueroa⁷, E Raya-Alvarez⁸, A Zea⁹, M Freire¹⁰, AI Sánchez-Atrio¹¹, R García-Vicuña¹², JM Pego-Reigosa¹³, S Manrique-Arija¹, L Nieves-Martín¹, L Carreño³ and on behalf of LESIMAB GROUP

¹UGC Reumatología, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Hospital Regional Universitario de Málaga/Universidad de Málaga, Málaga, Spain; ²Hospital Virgen de Valme, Rheumatology Department, Sevilla, Spain; ³Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Rheumatology Department, Madrid, Spain; ⁴Hospital Universitario 12 de Octubre, Rheumatology Department, Madrid, Spain; ⁵Hospital Virgen Macarena, Rheumatology Department, Sevilla, Spain; ⁶Hospital Universitario de Bellvitge, Rheumatology Department, Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain; ⁷Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín, Rheumatology Department, Las Palmas de Gran Canaria, Spain; ⁸Hospital Clínico Universitario San Cecilio, Rheumatology Department, Granada, Spain; ⁹Hospital Universitario Ramón y Cajal, Rheumatology Department, Madrid, Spain; ¹⁰Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Rheumatology Department, A Coruña, Spain; ¹¹Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Rheumatology Department, Alcalá de Henares, Madrid, Spain; ¹²Hospital Universitario de la Princesa, Rheumatology Department, Madrid, Spain; and ¹³Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Rheumatology Department, Hospital del Mexoeiro, Instituto de Investigación Biomédica de Vigo (IBIV), Vigo, Spain

Introduction: Patients with systemic lupus erythematosus (SLE) have increased cardiovascular risk related to lipid changes induced by inflammatory activity, proteinuria and treatments. Our objective was to analyse lipid changes in a cohort of patients with SLE resistant to standard treatments who were treated with rituximab. **Methods:** The study population comprised a retrospective multicentre, national cohort of patients with SLE resistant to standard treatments who were treated with rituximab. The basic lipid profile, concomitant treatment and disease activity were analysed at the start of the treatment, 24 weeks later, and at the end of the follow-up period. The effects of the main lupus variables and therapy on the lipid changes were analysed. **Results:** Seventy-nine patients with active lupus treated with rituximab were assessed during 149.3 patient-years. Prior to the treatment, 69% had dyslipidaemia. The most frequent abnormalities were a low-density lipoprotein (LDL) level of ≥ 100 mg/dl (34%) and a high-density lipoprotein (HDL) level of <50 mg/dl (27%). Baseline total cholesterol (TC) and LDL levels correlated with the degree of proteinuria, while the concentration of triglycerides (TGs) correlated with the SLE Disease Activity Index (SLEDAI). TGs were reduced at short- and long-term follow-up after rituximab treatment. A multiple linear regression analysis identified that the reduction of the lupus inflammatory activity, particularly changes in proteinuria, was the only independent variable that was positively associated with the reduction in TGs after 24 weeks ($p=0.001$) and with TC ($p=0.005$) and TGs ($p<0.001$) at the end of the follow-up period. **Conclusion:** Our results suggest that rituximab may improve the long-term lipid profile of patients with SLE refractory to standard treatment, mainly by reducing inflammatory activity. *Lupus* (2014) 0, 1–9.

Key words: Systemic lupus erythematosus; refractory; lipid profile; rituximab; cohort; proteinuria

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a complex multi-systemic disease characterized by chronic inflammation mediated by autoantibodies, cells and cytokines. In the cardiovascular system, the autoantibodies and inflammatory mediators cause endothelial vascular damage and accelerate the

Correspondence to: Sara Manrique-Arija, Rheumatology Service, Plaza del Hospital Civil s/n, 29009 Málaga, Spain.

Email: sarama_82@hotmail.com

All members of the LESIMAB Group can be found in the Appendix.

Received 10 December 2013; accepted 8 April 2014

© The Author(s), 2014. Reprints and permissions: <http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav>

10.1177/0961203314534909

Downloaded from lup.sagepub.com by guest on May 26, 2014

development of arteriosclerosis.¹ Consequently, after 10 years of disease, the risk of acute myocardial infarction or stroke in patients with SLE is 7.5–17 times that of healthy individuals.^{2–4} Although persistent systemic inflammation is an essential element in the cardiovascular risk of these patients, there are other factors involved, including the traditional cardiovascular risks and use of certain drugs, particularly glucocorticoids^{3–5} and non-steroidal anti-inflammatories.⁶

The availability of biological drugs, which act selectively on strategic immunological targets, is drastically changing the prognosis of rheumatic diseases. Some of these drugs, such as tumour necrosis factor (TNF) blockers, could lower the cardiovascular mortality of patients with rheumatoid arthritis,⁷ even though there are reports of the induction of an atherogenic lipid profile after a year of treatment.⁸ Although it has not been officially approved, rituximab, a chimeric monoclonal antibody directed selectively against CD20+ lymphocytes, is one of the most commonly used biological drugs in clinical practice for treatment of SLE refractory to standard treatment. A small provisional retrospective study has suggested that rituximab can have a positive effect on the lipid profile of patients with SLE after one year of follow-up,⁹ however, there are no other studies that confirm this conclusion in a larger number of patients and over a longer follow-up time. The objective of the present study was to investigate long-term changes in the lipid profile of patients with refractory SLE treated with rituximab, together with the factors that influence these changes.

Materials and methods

LESIMAB is a national retrospective, longitudinal observational study of SLE patients who have failed to respond to conventional therapy (including glucocorticoids, hydroxychloroquine and immunosuppressive drugs) and have been treated with rituximab. This study was designed by the Systemic Autoimmune Diseases Working Group of the Spanish Society of Rheumatology. A full description has been published in detail elsewhere.¹⁰ A course of rituximab was defined as a complete set of infusions (two doses of 1000 mg rituximab given 14 days apart or four weekly doses of 375 mg/m² rituximab) administered in each cycle of treatment. More severe or refractory lupus manifestation was considered the “main

indication for rituximab treatment”. From 18 November 2003 to 5 February 2009, 131 patients were included. The follow-up period was different for each patient.

For the present sub-analysis, LESIMAB patients had to present the following selection criteria: complete data regarding basic lipid profile (total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL) and triglycerides (TGs)) and whether they were taking or not taking cholesterol-lowering drugs or hydroxychloroquine at the start of the treatment with rituximab, at 24 weeks after the first infusion, and at the visit at the end of the follow-up period (after one or repeated courses of rituximab).

The Ethics and Clinical Research Committee of the Carlos Haya University Hospital, Málaga (Spain), approved the study as a central approval requirement; all participants provided local committee agreement, and written informed consent was obtained from recruited patients.

Main variables

The main variables gathered were the following lipid parameters: TC, HDL cholesterol, and TGs. Low-density lipoprotein (LDL) cholesterol level was calculated using the following formula: $LDL = TC - (TGs/5 + HDL)$. The TC/HDL ratio was also calculated as well as the Atherogenic Index of Plasma ($AIP = \log(TGs/HDL)$).

The following data were also collected: presence/absence of classic cardiovascular risk factors (hypertension, diabetes mellitus, smoking, dyslipidaemia and obesity); adjusted Charlson Comorbidity Index (CCI);¹¹ number of severely affected organs; and number of different types of drugs specifically for SLE received until the start of the study period. Hypertension was defined according to the European Guide for Hypertension 2007,¹² which considers Grade 1 hypertension as values above 140/90 mmHg. Obesity was defined as a body mass index ($BMI = \text{weight (kg)} / (\text{height in metres})^2$) of 30 or more. Dyslipidaemia was defined according to the recommendations of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP)-III.¹³ The Framingham Risk Score¹⁴ was calculated using the baseline variables.

The activity was measured using the Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SELENA-SLEDAI)

score^{15,16} and the damage accrual with the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology) Damage Index (SDI) for Systemic Lupus Erythematosus (SLICC/ACR).¹⁷ The concomitant use of other drugs including glucocorticoids, hydroxychloroquine, immunosuppressants and lipid-lowering agents was considered.

Statistical analysis

Normal distribution of variables was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. Paired two-sample *t*-test or Wilcoxon's signed-rank test was used to analyse the effect of rituximab after both the first treatment course and follow-up assessments. The McNemar's test was used for the comparison of correlated proportions. The relationship between changes in lipid profile and rituximab was studied. The changes in levels of lipids after 24 weeks and at the end of follow-up were entered as dependent variables in a multivariate linear regression analysis with a stepwise selection procedure. Changes in SELENA-SLEDAI, glucocorticoid dose, and both hydroxychloroquine and statin treatment were entered as possible explanatory variables. Subsequently, a second linear regression analysis was performed with changes in proteinuria added to the list of possible explanatory variables. All analyses were performed using the statistical software SPSS version 21.0 (IBM Corp. SPSS, USA).

Results

Of the 131 patients of the LESIMAB cohort, 52 did not have complete data, i.e. they did not fulfil selection criteria, and so 79 patients finally participated. The patients were followed up for an average (SD) of 98.7 (67.8) months, which represented a total of 149.28 patient-years.

Table 1 shows that the majority of lupus cases studied were Caucasian women less than 40 years of age with low comorbidity, although 25% already had an age-adjusted CCI of ≥ 3 . The average duration of the disease on starting the treatment with rituximab was relatively short. The subjects exhibited failure with numerous drugs and multiple accumulated ACR criteria, and the majority had suffered complications in at least two major organs. Further, most of the patients had a low Framingham Risk Score and the presence of at least one cardiovascular risk factor, of which

Effect of rituximab on lipids
A Fernández-Netro *et al.*

3

Table 1 Baseline characteristics of 79 selected refractory SLE patients treated with at least one course of rituximab

VARIABLES	
Demographics and comorbidity	
Age (years), mean (SD)	37.8 (12.0)
Gender: females, <i>n</i> (%)	74 (93.7)
Ethnicity: Caucasian, <i>n</i> (%)	70 (88.6)
Age-adjusted CCI, median (p25–p75), mediana (p25–p75)	2 (1–3)
SLE characteristics	
Disease duration (years), median (p25–p75)	4.8 (2.5–9.9)
Number of SLE criteria, median (p25–p75)	6 (5–8)
Equivalent proteinuria ^a , g/day, median (p25–p75)	0.125 (0–2)
Patients with nephrotic syndrome, <i>n</i> (%)	9 (11.4)
Number of involved organ-system, median (p25–p75)	2 (1–2)
Number of previous lupus-drugs, mean (SD)	5.4 (1.7)
Baseline SELENA-SLEDAI, mean (SD)	16.3 (9.7)
SDI score, median (p25–p75)	1 (0–2)
Coronary artery risk factors	
Number of classic cardiovascular risk factors, median (p25–p75)	1 (0–2)
BMI, median (p25–p75)	25.0 (21.9–27.5)
BMI ≥ 30 , <i>n</i> (%)	9 (11.4)
Previous dyslipidaemia, <i>n</i> (%)	32 (40.5)
Current or previous smoking, <i>n</i> (%)	21 (26.6)
Blood pressure $\geq 140/90$, <i>n</i> (%)	32 (40.5)
Diabetes mellitus	6 (7.6)
Framingham Risk Score (%), median (p25–p75)	2 (1–6)

^aEquivalent proteinuria g/day, proteinuria was calculated from proteinuria data measured by the urine protein/creatinine ratio and by the 24-hour urine collections according to the determination which had been done in each patient. We have assumed that a protein/creatinine ratio of 1000mg/g is equal to 1 g/24 hours.

SLE: systemic lupus erythematosus; CCI: Charlson Comorbidity Index; SELENA-SLEDAI: Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; SDI, Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus; BMI: body mass index.

dyslipidaemia, arterial hypertension and smoking were the most common.

Disease activity and treatment

As shown in Table 2, the baseline disease activity measured by the SELENA-SLEDAI was high in the majority of patients despite treatment with glucocorticoids, hydroxychloroquine and immunosuppressants. The majority of patients had already sustained damage related to lupus.

Thirty-eight (48.1%) patients have previously had lupus nephritis. The biopsy was known in 30 of them: three type II, seven type III, 17 type IV, two type V, and one type V-c.

Lupus

Table 2 Changes of clinic and lipid related variables at baseline and through the follow-up

Variable	Baseline	24 weeks	End of follow-up
Time of follow-up (weeks), mean (SD)		26.4 (4.4)	98.7 (67.8)
SELENA-SLEDAI, median (p25–p75)	16 (9–23)	4 (2–8) ^f	2 (0–6) ^f
SDI, median (p25–p75)	1 (0–2)	1 (0–2)	1 (0–2)
Concomitant treatment			
Steroids, n (%)	79 (100)	77 (97.5)	69 (87.3) ^e
Equivalent prednisone dose (mg/d), median (p25–p75)	20 (10–40)	10 (5–15) ^f	5 (5–10) ^f
Hydroxychloroquine, n (%)	40 (50.6)	37 (46.8)	41 (51.9)
Hydroxychloroquine dose (mg/d), median (p25–p75)	300 (200–400)	400 (200–400)	200 (200–400)
HMG-CoA-inhibitors, n (%)	16 (20.3)	21 (26.6)	20 (25.3)
Lipid profile			
TC (mg/dl), mean (SD)	200.1 (47.9)	196.0 (41.8)	189.1 (45.2) ^a
TGs (mg/dl), mean (SD)	146.8 (64.9)	137.3 (71.0)	128.8 (53.2) ^b
HDL (mg/dl), mean (SD)	61.7 (23.3)	63.2 (23.6)	61.4 (26.3)
LDL (mg/dl), mean (SD)	102.6 (46.6)	99.4 (41.4)	93.4 (39.3)
TC/HDL ratio, mean (SD)	3.5 (1.5)	3.4 (1.5)	3.4 (1.4)
AIP, mean (SD)	0.017 (0.257)	–0.033 (0.270) ^c	–0.036 (0.147) ^d

^a $p=0.059$; ^b $p=0.016$; ^c $p=0.034$; ^d $p=0.088$; ^e $p=0.002$ (McNemar's test); ^f $p<0.001$ (Wilcoxon signed-rank test).

SELENA-SLEDAI: Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment-Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; SDI: Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus; HMG-CoA-inhibitors, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A inhibitors; TC: total cholesterol; TGs: triglycerides; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; TC/HDL ratio: total cholesterol/high-density lipoprotein ratio; AIP: Atherogenic Index of Plasma.

The main indication for rituximab was based on the presence of severe refractory lupus involvement in one organ system: nephritis ($n=25$, 32%), arthritis ($n=15$, 19%), haematological ($n=14$, 18%), neurological ($n=9$, 11%), cutaneous ($n=6$, 8%), or other organ system ($n=10$, 13%). Four additional patients also had lupus nephritis but this was not the main indication for rituximab. In total, 29 (36.7%) patients had baseline lupus nephritis (mean (SD) baseline proteinuria = 3297 (2854) mg/day). Average proteinuria (SD) of the 25 patients with severe refractory lupus nephritis was 3.67 (2.87) g/day. In nine patients, proteinuria was ≥ 3.5 g/day. However, 31 (39.2%) had a baseline proteinuria higher than 500 mg/day (mean (SD) = 3244 (2739) mg/day) due to active nephropathy or residual proteinuria.

After the first course of rituximab (Table 2), disease activity changed from high activity to mild activity in the majority of patients and was maintained as inactive or with minimal activity during the follow-up period. Forty-four per cent of patients were treated with only one course of rituximab, 24% with two courses, and the remaining 25% with three or more courses.

The frequency of concomitant treatment with hydroxychloroquine or glucocorticoids, together with dose, is shown in Table 2. During the follow-up, the pattern of use and dose of hydroxychloroquine did not change significantly. However, almost 13% abandoned glucocorticoids completely

and the rest reduced the dose significantly. Despite the high frequency of basal dyslipidaemia, only 20% of the patients received statins (simvastatin or atorvastatin) and their frequency of use increased by 6% in the first 24 weeks.

At baseline, we observed a greater proportion of patients with lupus nephritis, who received a higher percentage of statins (renal disease, n (%) 14 (30.4) vs. non-renal disease, n (%) 9 (11.5); $p=0.009$), mycophenolate (renal disease, n (%) 10 (21.7) vs. non-renal disease, n (%) 6 (7.2); $p=0.017$) or cyclophosphamide (renal disease, n (%) 20 (43.5) vs. non-renal disease, n (%) 13 (15.7); $p=0.001$) in comparison to patients without nephritis. However, no differences in the remaining concomitant treatments were found.

Baseline lipid profile

As shown in Table 2, before treatment with rituximab, the patients as a group presented average figures of plasma lipids within the normal range. However, 68.7% had one or more lipid parameter outside the range recommended by the NCEP ATP-III (TC <240 mg/dl, LDL <100 mg/dl, HDL ≥ 50 mg/dl, and TGs <200 mg/dl). Abnormal levels of TC, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and TGs were present in 18%, 34%, 27% and 18% of patients, respectively.

Baseline levels of TC ($\rho = 0.285$; $p = 0.011$) and LDL ($\rho = 0.289$; $p = 0.026$) were positively correlated with the degree of proteinuria, and the level of TGs with the SELENA-SLEDAI ($r = 0.313$; $p = 0.005$). There was a direct correlation of the TC/HDL ratio with the accumulated damage by lupus measured by the SDI ($\rho = 0.290$; $p = 0.026$) and the baseline dose of prednisone ($\rho = 0.256$; $p = 0.050$). No correlation was observed between the baseline dose of prednisone and the remaining lipids.

Lipid changes after treatment with rituximab

Table 2 also shows the lipid profile 24 weeks after the first course of rituximab and at the end of the follow-up. The level of TGs decreased by approximately 12% ($p = 0.016$). Reduction in the AIP was greatest in the first 24 weeks ($p = 0.034$). Finally, the levels of TC and LDL also decreased (by 5.5% and 9.0%, respectively) but did not reach statistical significance. The level of HDL cholesterol remained stable.

Factors related to lipid changes

Bivariate correlations of the evolution of lupus activity and proteinuria with the lipid parameters were performed. Twenty-four weeks after the first course of rituximab, a direct correlation was seen between the variations of lupus activity and changes in the levels of TGs ($r = 0.366$; $p = 0.001$) and TC ($r = 0.345$; $p = 0.002$), which was maintained throughout the follow-up (TGs: $r = 0.254$; $p = 0.028$ and TC: $r = 0.289$; $p = 0.011$). Likewise, a positive correlation was observed between the improvement of proteinuria levels and the modifications in the TC ($\rho = 0.349$; $p = 0.005$) and LDL levels ($\rho = 0.447$; $p = 0.003$) and the TC/HDL ratio ($\rho = 0.0353$; $p = 0.020$), but not the TGs, after 24 weeks. At the end of the follow-up, these correlations were maintained only for TC ($\rho = 0.344$; $p = 0.004$) and TC/HDL ratio ($\rho = 0.316$; $p = 0.034$).

Table 3 shows the results of the multiple linear regression models where the changes in lupus activity, changes in proteinuria, changes in steroid dose and presence or absence of concomitant treatment with statins or hydroxychloroquine were introduced as independent variables. Model 1 did not consider the effect of changes in proteinuria, while model 2 did.

The results of model 1 showed that the only independent factor that predicted the favourable evolution of TGs and TC was the improvement of lupus activity, in both the short and long terms. Only a slight effect on the reduction of TC at the end of the follow-up was seen when statins were introduced in the first 24 weeks after rituximab treatment.

However, the model that took the effect of rituximab on proteinuria into account (model 2) was the most solid, with a higher R^2 value reflecting greater global influence on the lipid profile and correlations with changes in the LDL and HDL levels and the TC/HDL ratio at the end of the follow-up.

Discussion

The present study was conducted to investigate the effects of rituximab on the lipid profile of patients with lupus. Because it is difficult to collect a sufficient number of SLE cases treated with rituximab, we recruited subjects from the multicentre, national cohort LESIMAB.¹⁰ These patients had severe disease considering the short average duration of the illness, number of accumulated ACR criteria, number of organs severely affected, and average number of different types of drugs used previously.

One aspect that should be highlighted from our results is that 69% of patients had one or more lipid abnormalities according to those defined by the NCEP ATP-III,¹³ the most common being the presence of high levels of LDL and low levels of HDL, that is to say the most atherogenic profile. It should be noted that only 20% of patients were treated with lipid-lowering drugs. In general, patients with SLE have higher levels of TGs, TC and LDL along with less favourable TC/HDL ratios compared with normal subjects.^{9,18–23} However, the research studies that these data are based on cannot easily be compared as they include patients with very different profiles of activity, severity and treatment. The influence of each one of these aspects is crucial in patients with SLE and was considered in our study.

All of the study patients had high activity when they were treated with rituximab and almost one-third had active nephritis. It has been reported that patients with SLE have worse ratios of TC/HDL and LDL/HDL during recurrences than remissions,²¹ and patients with nephrotic syndrome have higher levels of TC and LDL and lower levels of HDL.¹⁸ Our results concur with these findings; we also found a positive correlation at the start of the research between lupus activity and

Table 3 Two models multiple linear regression analysis with change in triglycerides, total cholesterol, LDL, HDL, and TC/HDL ratio as the dependent variables

Lipid, variable (dependent)	Lupus, variable (independent)	B	95% CI	Standardized β coefficient	p
Delta-TG (24w)					
Model 1 ($R^2 = 0.134$)	Delta-SLEDAI (24 w)	2.53	1.07, 3.99	0.366	0.001
Model 2 ($R^2 = 0.270$)	Delta-proteinuria (24 w)	15.9	9.14, 22.64	0.519	<0.001
Delta-TC (24w)					
Model 1 ($R^2 = 0.119$)	Delta-SLEDAI (24 w)	1.84	0.71, 2.98	0.345	0.002
Model 2 ($R^2 = 0.144$)	Delta-proteinuria (24 w)	8.97	3.33, 14.61	0.380	0.002
Delta-LDL (24w)					
Model 1	None				
Model 2 ($R^2 = 0.150$)	Delta-proteinuria (24 w)	9.25	2.32, 16.19	0.388	0.010
Delta-TC/HDL (24w)					
Model 1	None				
Model 2 ($R^2 = 0.234$)	Delta-proteinuria (24 w)	0.37	0.16, 0.58	0.484	0.001
Delta-TG (follow-up)					
Model 1 ($R^2 = 0.064$)	Delta-SLEDAI (follow-up)	1.68	0.19, 3.17	0.254	0.028
Model 2 ($R^2 = 0.280$)	Delta-proteinuria (follow-up)	14.3	8.63, 20.03	0.529	<0.001
Delta-TC (follow-up)					
Model 1 ($R^2 = 0.131$)	Delta-SLEDAI (follow-up)	1.30	0.09, 2.51	0.239	0.036
	HMG-CoA (24 w)	26.78	0.09, 53.46	0.224	0.049
Model 2 ($R^2 = 0.190$)	Delta-proteinuria (follow-up)	9.43	4.61, 14.24	0.430	<0.001
Delta-LDL (follow-up)					
Model 1	None				
Model 2 ($R^2 = 0.174$)	Delta-proteinuria (follow-up)	9.33	3.09, 15.58	0.418	0.004
Delta-TC/HDL (follow-up)					
Model 1	None				
Model 2 ($R^2 = 0.145$)	Delta-proteinuria (follow-up)	0.35	0.09, 0.60	0.381	0.010
Delta-HDL (follow-up)					
Model 1	None				
Model 2 ($R^2 = 0.146$)	Delta-proteinuria follow-up	-6.11	-10.66, -1.57	-0.382	0.010

LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; TC: total cholesterol; CI: confidence interval; TG: triglycerides; HMG-CoA: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A; SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; VLDL: very low-density lipoprotein. Changes in SLEDAI, changes in prednisone, use of hydroxychloroquine, and statins were used as independent variables (model 1) plus changes in proteinuria (model 2) after 24 weeks of first rituximab course, and at the end of follow-up. Delta-SLEDAI (24 w), differences in SLEDAI between baseline and week 24. Delta-proteinuria (24 w), differences in proteinuria between baseline and week 24. Delta-TG (24 w), differences in TGs between baseline and week 24. Delta-TC (24 w), differences in TC between baseline and week 24. Delta-LDL (24 w), differences in LDL between baseline and week 24. Delta-HDL (24 w), differences in HDL between baseline and week 24. Delta-TC/HDL ratio (24 w), differences in TC/HDL ratio between baseline and week 24. Delta-SLEDAI (follow-up), differences in SLEDAI between baseline and the last visit. Delta-proteinuria (follow-up), differences in proteinuria between baseline and the last visit. Delta-TG (follow-up), differences in TGs between baseline and the last visit. Delta-TC (follow-up), differences in TC between baseline and the last visit. Delta-LDL (follow-up), differences in VLDL between baseline and the last visit. Delta-TC/HDL (follow-up), differences in TC/HDL ratio between baseline and the last visit.

the level of TGs, while the severity of proteinuria was correlated with TC and LDL levels.

Another aspect of our research that is worth emphasizing is that the patients were receiving drugs with known effects on plasma lipids when they entered the study. All were taking high doses of steroids, and 50% were receiving antimalarial drugs and 20% statins. High doses of glucocorticoids increase hepatic synthesis of lipoproteins, which might have resulted in higher levels of TGs, TC and LDL²⁰ in our patients; this could have been partially offset by the effect of antimalarial drugs, as has been described by other authors,^{20,23,24} which might explain the fact that we did not find a correlation between the baseline dose of steroids and the main lipids. The statins used by the study

patients also modify TC and LDL levels; however, our results show that they were underused in our patients during the study, an observation which has also been reported in other studies.²⁵

Long- and short-term improvements in the lipid profile were observed after rituximab treatment was initiated. Even though the level of TGs was elevated in only a small number of patients, the largest reductions were seen in the TGs in the lipid profile and resultant AIP values. Although this change meant an improvement in the lipid profile of our patients, it was insufficient to reduce the cardiovascular risk, because the reductions in the TC and LDL levels did not reach statistical significance and the HDL level remained stable. These lipid changes were most likely associated with the

improvement in lupus inflammatory activity induced by rituximab. In fact, the patients experienced an intense and sustained reduction of activity measured by the SLENA-SLEDAI that was positively correlated in the bivariate analysis with the lowering of lipid levels, including TGs and TC, in both the short and long terms. These results confirm the preliminary results that were recently published by the Isenberg group.⁹ However, the change in the activity of the illness is not the only variable that can influence the lipid changes in these patients, because there are other important factors associated with lupus and its treatment, as have been mentioned previously. Furthermore, such factors underwent variations during the follow-up. For example, decreased lupus activity reduced the need for steroids, with subsequent discontinuation in a large percentage of patients, which could explain in part the decrease in TGs without changes in HDL level. However, LDL level did not improve (as expected with decreased steroid use) and there was no correlation between the changes in the steroid dose and the lipid decreases.

We used multivariate linear regression analysis to investigate the influences of the illness and the concomitant drugs. Because proteinuria has significant weight in the SLEDAI, we decided to carry out a first model, which did not include the evolution of proteinuria. On the other hand, because nephritis was present in only one-third of the patients and no co-linearity was observed between the variable changes of proteinuria and changes of the SLEDAI, we constructed a second model which did take proteinuria into account. The result of the first model suggested that the lipid benefit of rituximab was mediated through the reduction of the disease activity and not through changes in the concomitant treatment. The second model established that reduction in proteinuria was an even stronger predictor of the lipid changes observed with rituximab in the LESIMAB cohort.

However, neither of the two models explained more than 30% of the results of the lipid variables and only one-third of our patients had significant proteinuria at the start of the treatment with rituximab. Therefore, additional factors not controlled in our study might have influenced the effects on proteinuria and lipids. Rituximab produces a depletion of B CD20+ cells and consequently diminishes antigenic presentation to T cells, production of autoantibodies and production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-1, and TNF.^{26,27} These cytokines, particularly TNF, are involved in insulin resistance,^{28,29} interfere with lipoprotein lipase,^{30,31} increase de novo synthesis of

very low-density lipoprotein (VLDL) in the liver,³² and have a key role in lupus nephritis resistant to conventional treatment.^{33,34} Therefore, the reduction in pro-inflammatory cytokine levels might mediate the effects of rituximab on the metabolism of TGs and on proteinuria.

The present study had the following limitations. First, the study population was limited to a subgroup of patients having complete data for all the main variables at the start of the study and throughout follow-up. Although this could represent a selection bias, the general characteristics, main manifestations of lupus, and treatments used including rituximab, glucocorticoids, antimalarial drugs and statins were similar to those of the complete cohort (no data provided).¹⁰ In addition, the baseline lipid levels of the selected patients were compared with those of the complete cohort and no differences were found. Second, the use of hormonal contraceptives was not specifically reflected in our case report. In general, the prolonged use of oestrogens has a potentially positive impact on the levels of HDL and LDL cholesterol.³⁵ Nevertheless, use of this type of drug is not frequent in patients with SLE. Third, our study is not a controlled study because it is a retrospective multicentre study and patients included had very complicated management. Therefore, the possibility of finding a suitable control arm was very difficult.

In summary, treatment with rituximab may improve the lipid profile of patients with SLE refractory to standard therapy through improved control of lupus activity.

Funding

This work was partially supported by Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud (RETICS) Program, RD08/0075 (RIER), from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), within the 6th National Plan of Research, Development and Innovation 2008–2011 (FEDER Funding).

Dr Pego-Reigosa is supported by a grant, 316265 (BIOCAPS), from the European Union 7th Framework Programme (FP7/REGPOT-2012-2013.1).

Conflict of interest statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- Liu Z, Davidson A. Taming lupus – a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med* 2012; 18: 871–882.
- Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: Comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 408–415.
- Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: A prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 141–150.
- Bessant R, Hingorani A, Patel L, MacGregor A, Isenberg DA, Rahman A. Risk of coronary heart disease and stroke in a large British cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 924–929.
- Petri M, Lakatta C, Magder L, Goldman D. Effect of prednisone and hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factors in systemic lupus erythematosus: A longitudinal data analysis. *Am J Med* 1994; 96: 254–259.
- Carmona L, Fernández-Nebro A, Gonzalez-Crespo R, Maese J, Nishishinya B. Meta-analysis of cardiovascular events in patients with rheumatic diseases using COX-2 inhibitors (not rofecoxib). *Arthritis Rheum* 2005; 52: S230.
- Carmona L, Descalzo MA, Perez-Pampin E, et al. All-cause and cause-specific mortality in rheumatoid arthritis are not greater than expected when treated with tumour necrosis factor antagonists. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 880–885.
- Popa C, van den Hoogen FH, Radstake TR, et al. Modulation of lipoprotein plasma concentrations during long-term anti-TNF therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1503–1507.
- Pego-Reigosa JM, Lu TY, Fontanillo MF, del Campo-Pérez V, Rahman A, Isenberg DA. Long-term improvement of lipid profile in patients with refractory systemic lupus erythematosus treated with B-cell depletion therapy: A retrospective observational study. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 691–696.
- Fernández-Nebro A, de la Fuente JL, Carreño L, et al. Multicenter longitudinal study of B-lymphocyte depletion in refractory systemic lupus erythematosus: The LESIMAB study. *Lupus* 2012; 21: 1063–1076.
- Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40: 373–383.
- Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. ESH/ESC 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension [article in Spanish]. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60: 968.e961–e994.
- Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486–2497.
- Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837–1847.
- Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: A phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2580–2589.
- Sabahi R, Anolik JH. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. *Drugs* 2006; 66: 1933–1948.
- Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 363–369.
- Sarkissian T, Beyene J, Feldman B, McCrindle B, Silverman ED. Longitudinal examination of lipid profiles in pediatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 631–638.
- Borba EF, Bonfá E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: Influence of disease, activity, and antidiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6: 533–539.
- Ettinger WH, Goldberg AP, Applebaum-Bowden D, Hazzard WR. Dyslipoproteinemia in systemic lupus erythematosus. Effect of corticosteroids. *Am J Med* 1987; 83: 503–508.
- Urquiza-Padilla M, Balada E, Chacon P, Pérez EH, Vilardell-Tarrés M, Ordi-Ros J. Changes in lipid profile between flare and remission of patients with systemic lupus erythematosus: A prospective study. *J Rheumatol* 2009; 36: 1639–1645.
- Formiga F, Meco JF, Pinto X, Jacob J, Moga I, Pujol R. Lipid and lipoprotein levels in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2001; 10: 359–363.
- Borba EF, Bonfá E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J Rheumatol* 2001; 28: 780–785.
- Wallace DJ, Metzger AL, Stecher VJ, Turnbull BA, Kern PA. Cholesterol-lowering effect of hydroxychloroquine in patients with rheumatic disease: Reversal of deleterious effects of steroids on lipids. *Am J Med* 1990; 89: 322–326.
- Costenbader KH, Wright E, Liang MH, Karlson EW. Cardiac risk factor awareness and management in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 51: 983–988.
- Lund FE, Garvy BA, Randall TD, Harris DP. Regulatory roles for cytokine-producing B cells in infection and autoimmune disease. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 25–54.
- Silverman GJ, Carson DA. Roles of B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2003; 5(Suppl 4): S1–S6.
- Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF- α -induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999; 107: 119–125.
- Gonzalez-Gay MA, De Matias JM, Gonzalez-Juanatey C, et al. Anti-tumor necrosis factor- α blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 83–86.
- Qin B, Qiu W, Avramoglu RK, Adeli K. Tumor necrosis factor- α induces intestinal insulin resistance and stimulates the overproduction of intestinal apolipoprotein B48-containing lipoproteins. *Diabetes* 2007; 56: 450–461.
- Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985; 161: 984–995.
- Svenungsson E, Gunnarsson I, Fei GZ, Lundberg IE, Klareskog L, Frostegård J. Elevated triglycerides and low levels of high-density lipoprotein as markers of disease activity in association with up-regulation of the tumor necrosis factor α /tumor necrosis factor receptor system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2533–2540.
- Matsumura R, Umehiya K, Sugiyama T, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy in patients with difficult-to-treat lupus nephritis: A prospective series of nine patients. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 416–421.
- Wu T, Xie C, Wang HW, et al. Elevated urinary VCAM-1, P-selectin, soluble TNF receptor-1, and CXCL chemokine ligand 16 in multiple murine lupus strains and human lupus nephritis. *J Immunol* 2007; 179: 7166–7175.
- Lobo RA, Skinner JB, Lippman JS, Cirillo SJ. Plasma lipids and desogestrel and ethinyl estradiol: A meta-analysis. *Fertil Steril* 1996; 65: 1100–1109.

Appendix

LESIMAB GROUP: Eduardo Úcar, Javier Narváez, Antonio Fernández-Nebro, Sara Manrique-Arija, Laura Nieves-Martín, María Galindo, Patricia E Carreira, Iñigo Rúa-Figueroa, Alejandro Olivé, Francisco López-Longo, Luís Carreño, José Pérez-Venegas, Mercedes Freire,

Effect of rituximab on lipids
A Fernández-Nebro *et al.*

9

Genaro Graña-Gil, Víctor M Martínez-Taboada,
José María Pego-Reigosa, Rosario García-Vicuña,
Eva Tomero, Ana Isabel Sánchez-Atrio, José L
Andreu, Mónica Fernández-Castro, Antonio Zea,

Alina L Boteanu, María L Gamir, Enrique Raya-
Álvarez, Jaime Calvo-Alén, Ignacio Villa-Blanco,
José Luis Marenco, Rosalía Martínez-Pérez,
Blanca Estela Hernández-Cruz, Javier Toyos.

Lupus

Downloaded from lup.sagepub.com by guest on May 26, 2014